

Deutsches Institut für Ernährungsforschung

Potsdam-Rehbrücke

**„Untersuchung kardioprotektiver Wirkungen
des Olivenöles und seiner phenolischen Komponenten
in einer Gruppe gesunder deutscher Männer“**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

„doctor rerum naturalium“

(Dr. rer. nat.)

in der Wissenschaftsdisziplin „Ernährungswissenschaft“

eingereicht an der
Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Universität Potsdam

von
Anja Machowetz
geb. am 16.12.1978 in Halle/S.

Potsdam, Juni 2006

„Die Wissenschaft fängt eigentlich erst an,
interessant zu werden,
wo sie aufhört.“

Justus von Liebig (1803 - 1873)

Inhaltsverzeichnis

	Seite
TABELLENVERZEICHNIS	VI
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VIII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	X
1 ZUSAMMENFASSUNG	1
2 ABSTRACT	2
3 EINLEITUNG	3
4 THEORETISCHE GRUNDLAGEN	5
4.1 Arteriosklerose und kardiovaskuläre Erkrankungen	5
4.1.1 Definitionen.....	5
4.1.2 Epidemiologie kardiovaskulärer Erkrankungen	5
4.1.3 Pathogenese der Arteriosklerose	7
4.2 Redox-Status – oxidativer Stress, reaktive Sauerstoffspezies, Antioxidantien	10
4.2.1 Freie Radikale und reaktive Sauerstoffspezies	11
4.2.1.1 <i>Definitionen und endogene Bildung</i>	11
4.2.1.2 <i>Biologische Wirkung</i>	13
4.2.2 Lipidperoxidation	14
4.2.2.1 <i>Mechanismen der Lipidperoxidation</i>	14
4.2.2.2 <i>Ausgewählte Biomarker der Lipidperoxidation</i>	17
4.2.3 Antioxidative Schutzmechanismen	19
4.3 Mediterrane Ernährung	22
4.3.1 Charakteristika der traditionellen mediterranen Ernährung	23
4.3.2 Die mediterrane Ernährung heute.....	24
4.4 Olivenöl	25
4.4.1 Ernte und Olivenölgewinnung.....	25
4.4.2 Verzehr und Produktion	27
4.4.3 Güteklassen	27
4.4.4 Charakteristika und Inhaltsstoffe.....	28

4.5	Phenolische Verbindungen im Olivenöl – Oleuropein, Hydroxytyrosol und Tyrosol	30
4.5.1	Pharmakokinetik.....	31
4.5.2	Potentielle Wirkungsmechanismen im kardiovaskulären System.....	33
5	ZIELSTELLUNG	36
6	STUDIENKONZEPT UND UNTERSUCHUNGSMETHODEN	37
6.1	Probandenrekrutierung und Anforderungsprofil	37
6.2	Screening und Randomisierung	38
6.3	Studiendesign	39
6.4	Olivenöl der Studie	41
6.4.1	Charakterisierung des Olivenöles.....	41
6.4.2	Lagerung, Management der Olivenölbehälter und Stabilitätskontrolle.....	42
6.4.3	Richtlinien für den Verzehr des Olivenöles und der habituellen Ernährung.....	43
6.4.4	Fragebogen zum Olivenölverzehr	44
6.5	Untersuchungsmethoden.....	44
6.5.1	Anthropometrie	44
6.5.2	Gelegenheitsblutdruckmessung.....	45
6.5.3	Erfassung der Energie- und Nährstoffzufuhr.....	45
6.5.4	Erfassung der körperlichen Aktivität.....	46
6.5.4.1	<i>Retrospektives Aktivitätsprotokoll zur Erfassung der Freizeitaktivität.....</i>	<i>46</i>
6.5.4.2	<i>Prospektives Aktivitätsprotokoll zur Validierung der Ernährungserhebung</i>	<i>47</i>
6.5.5	Blutuntersuchungen.....	47
6.5.5.1	<i>Serumlipide und Serumglukose</i>	<i>48</i>
6.5.5.2	<i>Marker der Lipidperoxidation.....</i>	<i>49</i>
6.5.5.3	<i>Endogene Antioxidantien</i>	<i>51</i>
6.5.6	Urinuntersuchungen	53
6.5.6.1	<i>Tyrosol, Hydroxytyrosol und 3-O-Methylhydroxytyrosol</i>	<i>54</i>
6.6	Statistische Auswertung	54
7	ERGEBNISSE.....	56
7.1	Veränderungen im Stichprobenumfang	56
7.2	Charakterisierung der Probanden.....	57
7.3	Olivenölverzehrverhalten	58
7.4	Validierung der Ernährungserhebung anhand einer Subpopulation.....	59
7.5	Ausscheidung phenolischer Marker im Urin und Compliancemessung	60

7.6	Anthropometrische Daten und Gelegenheitsblutdruckmessung.....	61
7.7	Energie- und Nährstoffaufnahme	63
7.8	Blutlipide	67
7.9	Marker der Lipidperoxidation	70
7.10	Endogene Antioxidantien	73
8	DISKUSSION	77
8.1	Stärken und Schwächen im Studienkonzept	77
8.2	Bewertung der Compliance	78
8.3	Anthropometrische Daten und Gelegenheitsblutdruck	79
8.4	Bewertung der Ernährungserhebung und des Olivenölverzehrverhaltens	80
8.5	Blutlipide	84
8.6	Lipidperoxidation	86
8.7	Endogene Antioxidantien	92
9	SCHLUSSFOLGERUNG	101
10	LITERATURVERZEICHNIS.....	102
11	ANHANG	XI
11.1	Eurolive Projektpartner	XI
11.2	Rekrutierungsmaterialien	XII
11.3	Informations- und Studienmaterialien.....	XIV
11.4	Protokolle und Fragebögen	XIX
11.5	Briefe an die Probanden	XLI
11.6	Ergänzende Daten	LII
	DANKSAGUNG.....	LV
	SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG	LVI

TABELLENVERZEICHNIS

	Seite
Tab. 4.1: Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen.....	6
Tab. 4.2: Eigenschaften, durch die sich oxidierte von nativen LDL unterscheiden.....	9
Tab. 4.3: Nomenklatur und Quellen wichtiger reaktiver Sauerstoffspezies.....	13
Tab. 4.4: Olivenölverzehr in der Europäischen Union.....	27
Tab. 4.5: Güteklassen von Olivenöl und Oliventresteröl.....	28
Tab. 4.6: Potentielle Wirkungsmechanismen der Olivenölphenole im kardiovaskulären Systemo <i>in vitro</i> und im Tiermodell.....	34
Tab. 6.1: Prozentuale Verteilung der unterschiedlichen Rekrutierungsmaßnahmen der Probanden des DIFE.....	37
Tab. 6.2: Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme.....	38
Tab. 6.3: Analysierte Blut- und Urinparameter im Rahmen der Screeninguntersuchung...	39
Tab. 6.4: Charakteristik der in der Studie verwendeten Olivenölsorten.....	41
Tab. 6.5: Prozentuale Zusammensetzung der phenolischen Verbindungen des in der Studie verwendeten nativen Olivenöles.....	42
Tab. 7.1: Charakteristika der Studienpopulation, gesamt und aufgeteilt nach der Verzehrreihenfolge der Olivenöle.....	57
Tab. 7.2: Soziodemographische Merkmale und Familienanamnese der Studienpopulation, gesamt und aufgeteilt nach der Verzehrreihenfolge der Olivenöle.....	58
Tab. 7.3: Gewicht, Body Mass Index und Gelgenheitsblutdruck zu Beginn und Ende der Verzehrphasen mit und ohne Olivenöl.....	62
Tab. 7.4: Gewicht, Body Mass Index und Gelgenheitsblutdruck zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	63
Tab. 7.5: Energie- und Nährstoffaufnahme zu Baseline und am Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	66
Tab. 7.6: Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Trigylzeride zu Beginn und Ende der Verzehrphasen mit und ohne Olivenöl.....	69
Tab. 7.7: Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	70
Tab. 7.8: Marker der Lipidperoxidation zu Beginn und Ende der Verzehrphasen mit und ohne Olivenöl.....	71
Tab. 7.9: Marker der Lipidperoxidation zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	72

Tab. 7.10:	Antioxidative Enzyme, reduziertes und oxidiertes Glutathion und deren Verhältnis zu Beginn und Ende der Verzehrsphasen mit und ohne Olivenöl.....	75
Tab. 7.11:	Antioxidative Enzyme, oxidiertes und reduziertes Glutathion und deren Verhältnis zu Beginn und Ende des Verzehr von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	76
Tab. 8.1:	Kriterien für den idealen Biomarker zur Beurteilung des oxidativen Stresses....	86
Tab. 11.1:	Renale Exkretion der phenolischen Marker Tyrosol, Hydroxytyrosol und 3-O-Methylhydroxytyrosol zu Baseline und zu Beginn und Ende des Verzehr von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	LII
Tab. 11.2:	Gewicht, Body Mass Index, Gelegenheitsblutdruck, Blutlipide, Parameter der Lipidperoxidation und endogene Antioxidantien im Studienverlauf.....	LII
Tab. 11.3:	Energie- und Nährstoffaufnahme im Studienverlauf.....	LIV
Tab. 11.4:	Energie- und Nährstoffaufnahme in den Verzehrsphasen mit und ohne Olivenöl.....	LIV

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

	Seite
Abb. 4.1: Vereinfachte Darstellung der Pathogenese der Arteriosklerose.....	10
Abb. 4.2: Aktivierung des molekularen Sauerstoffs.....	12
Abb. 4.3: Reaktionswege und -produkte der Lipidperoxidation.....	16
Abb. 4.4: Enzymatische Inaktivierung von aktivem Sauerstoff.....	20
Abb. 4.5: Ernährungspyramide der traditionellen mediterranen Diät.....	24
Abb. 4.6: Arbeitsschritte bei der traditionellen und modernen Olivenölgewinnung.....	26
Abb. 4.7: Chemische Strukturen der in Oliven und Olivenöl vorwiegend vorkommenden phenolischen Verbindungen.....	30
Abb. 4.8: Postulierter Metabolismus von Hydroxytyrosol <i>in vivo</i>	32
Abb. 6.1: Studienablauf.....	40
Abb. 6.2: Olivenöle mit Codierung.....	42
Abb. 7.1: Veränderungen im Stichprobenumfang während des Studienzeitraumes.....	56
Abb. 7.2: Wichtung der Geschmackskriterien des Olivenöles.....	58
Abb. 7.3: Korrelation zwischen Energieaufnahme und Energieverbrauch.....	59
Abb. 7.4: Bland-Altman Plot: Differenz zwischen Energieaufnahme und Energieverbrauch aufgetragen gegen den Mittelwert beider Erhebungen.....	59
Abb. 7.5: Absolute Veränderungen der renalen Exkretion der phenolischen Marker Tyrosol, Hydroxytyrosol und 3-O-Methylhydroxytyrosol nach Verzehr von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	61
Abb. 7.6: Zufuhr von Kohlenhydraten, Fett und Protein im Studienverlauf.....	64
Abb. 7.7: Zufuhr von SFA, MUFA, PUFA und Ölsäure im Studienverlauf.....	64
Abb. 7.8: Aufnahme von Kohlenhydraten, Fett und Protein in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr.....	65
Abb. 7.9: Aufnahme von SFA, MUFA, PUFA und Ölsäure in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr.....	65
Abb. 7.10: Absolute Veränderungen der Aufnahme von Kohlenhydraten, Fett und Protein in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	67
Abb. 7.11: Absolute Veränderungen der Aufnahme von SFA, MUFA, PUFA und Ölsäure in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	67
Abb. 7.12: Blutkonzentrationen von Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride im Studienverlauf.....	67
Abb. 7.13: Absolute Veränderungen von Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride im Serum in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr.....	68
Abb. 7.14: Absolute Veränderungen von Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride im Serum in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	69

Abb. 7.15:	Blutkonzentrationen von oxLDL und OLAB im Studienverlauf.....	70
Abb. 7.16:	Blutkonzentrationen von CD und OHFA im Studienverlauf.....	71
Abb. 7.17:	Blutkonzentration von F ₂ -Isop im Studienverlauf.....	71
Abb. 7.18:	Absolute Veränderungen der Lipidperoxidationsmarker (A: OLAB und oxLDL; B: CD und OHFA; C: F ₂ -Isop) im Blut in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr.....	72
Abb. 7.19:	Absolute Veränderungen der Lipidperoxidationsmarker (A: OLAB und oxLDL; B: CD und OHFA; C: F ₂ -Isop)im Blut in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	73
Abb. 7.20:	Blutkonzentrationen von GSH-Px und GSSG-Rd im Studienverlauf.....	73
Abb. 7.21:	Blutkonzentrationen von SOD und PON im Studienverlauf.....	74
Abb. 7.22:	Blutkonzentrationen von GSH, GSSG und deren Verhältnis im Studienverlauf.....	74
Abb. 7.23:	Absolute Veränderungen der antioxidativen Enzyme (A: GSH-Px, GSSG-Rd, PON und SOD), reduziertes und oxidiertes Glutathion (B: GSH und GSSG) und deren Verhältnis (C:Verhältnis GSH/GSSG) im Blut in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr.....	75
Abb. 7.24:	Absolute Veränderungen der antioxidativen Enzyme (A: GSH-Px, GSSG-Rd, PON und SOD), reduziertes und oxidiertes Glutathion (B: GSH und GSSG) und deren Verhältnis (C:Verhältnis GSH/GSSG) im Blut in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl.....	76
Abb. 8.1:	Verlauf der Kupfer-induzierten Bildung konjugierter Dienen im LDL-Partikel.....	88
Abb. 8.2:	Postulierter Mechanismus der NO-vermittelten Gluathion-Peroxidase Inaktivierung.....	96

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

BMI	Body Mass Index
CD	konjugierte Diene
CVD	kardiovaskuläre Erkrankungen (<i>engl. coronary vascular disease</i>)
DIfE	Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Potsdam-Rehbrücke
DBD	diastolischer Blutdruck
Δ	Differenz (Delta)
F ₂ -Isop	F ₂ -Isoprostane
GSH	Glutathion (reduziert)
GSSG	Glutathiondisulfid (oxidiertes Glutathion)
GSH/GSSG Verhältnis	Verhältnis von reduziertem zu oxidiertem Glutathion
GSH-Px	Glutathion-Peroxidase
GSSG-Rd	Glutathion-Reduktase
HDL-C	High Density Lipoprotein - Cholesterin
KHK	koronare Herzerkrankung
LDL-C	Low Density Lipoprotein - Cholesterin
MUFA	einfach ungesättigte Fettsäuren (<i>engl. monounsaturated fatty acids</i>)
n	Stichprobenumfang
oxLDL	oxidiertes LDL
OLAB	oxidierter LDL-Antikörper
OHFA	Hydroxyfettsäuren
PON	Paraoxonase
PUFA	mehrfach ungesättigte Fettsäuren (<i>engl. polyunsaturated fatty acids</i>)
ROS	reaktive Sauerstoffspezies (<i>engl. reactive oxygen species</i>)
SFA	gesättigte Fettsäuren (<i>engl. saturated fatty acids</i>)
SEM	Standardfehler des Mittelwertes (<i>engl. standard error of mean</i>)
SOD	Superoxid-Dismutase
SBD	systolischer Blutdruck
THQ	Taille-Hüfte-Quotient
tChol	Gesamtcholesterin
TG	Triglyzeride

1 ZUSAMMENFASSUNG

Einleitung: Epidemiologische Daten belegen, dass die mediterrane Ernährung mit einer niedrigen Inzidenz an mit oxidativen Stress assoziierten kardiovaskulären Erkrankungen einhergeht. Dabei wird vor allem dem Olivenöl, als Hauptfettlieferant in der mediterranen Ernährung, eine kardioprotektive Wirkung zugesprochen. Olivenöl zeichnet sich neben dem hohen Gehalt an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) durch ein reichhaltiges Spektrum an phenolischen Verbindungen aus, deren antioxidative Wirkung bereits zahlreichen in *in vitro* Studien beschrieben wurde. Demnach könnte der Verzehr von phenolreichem Olivenöl auch *in vivo* vor oxidativen Schädigungen schützen und somit das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen senken.

Zielstellung: Untersuchung der kardioprotektiven Wirkung von Olivenöl und seiner phenolischen Komponenten in einer Gruppe gesunder deutscher Männer.

Methode: Dazu wurde eine randomisierte cross-over doppelt-verblindete Interventionsstudie an 70 gesunden Männern zwischen 20 - 60 Jahren im Raum Berlin-Brandenburg durchgeführt. In jeweils drei dreiwöchigen Interventionsphasen konsumierten die Probanden täglich 25 ml natives (phenolreich), gemischtes (mittlerer Phenolgehalt) und raffiniertes (annähernd phenolfrei) Olivenöl, was sich ausschließlich im Gehalt an phenolischen Verbindungen unterschied. Das Olivenöl sollte dabei die gewöhnlich verzehrten Fette ersetzen. Die Interventionsphasen waren durch zweiwöchige Wash out-Phasen unterbrochen. Die Erhebung der Blutlipide, Biomarker der Lipidperoxidation und endogene Antioxidantien erfolgte zu Studienbeginn sowie zu Beginn und Ende jeder Verzehrsperiode.

Ergebnisse: Bei den Blutlipiden sowie den Biomarkern der Lipidperoxidation und den endogenen Antioxidantien konnte keine signifikante Veränderung in Abhängigkeit vom Phenolgehalt der applizierten Olivenöle nachgewiesen werden. Einzig die Glutathion-Reduktase-Aktivität stieg mit zunehmendem Gehalt an phenolischen Verbindungen ($p_{\text{Trend}} = 0,041$). Unabhängig von der Konzentration der Phenole im Olivenöl wurde bei den Probanden durch den Olivenölverzehr eine Senkung von Gesamtcholesterol ($p = 0,007$) und Triglyzeride ($p = 0,013$) im Serum erzielt. Diese Wirkung geht einher mit einem gestiegenen MUFA-Anteil in der Ernährung aufgrund des Olivenölkonsums ($p < 0,001$).

Schlussfolgerung: Die Hypothese, dass die Phenole im Olivenöl aufgrund ihrer in *in vitro* und Tierstudien beschriebenen antioxidativen Wirkung dem Olivenöl neben dem einzigartigen Fettsäureprofil eine zusätzliche kardioprotektive Wirkung bescheren, konnte in der vorliegenden Studie nicht gezeigt werden. Dennoch konnte durch den Olivenölverzehr und der damit einhergehenden Erhöhung des MUFA-Anteils in der Ernährung eine vorteilhafte Beeinflussung der Blutlipide erzielt werden. Obgleich Olivenöl nicht das vorwiegend verzehrte Fett in Deutschland darstellt, zeigten die befragten Probanden eine hohe Akzeptanz. Folglich könnte die Integration von Olivenöl in die habituelle Ernährung einen Beitrag zur Senkung des kardiovaskulären Erkrankungsrisikos leisten.

2 ABSTRACT

BACKGROUND: Epidemiological data show that the Mediterranean diet is related to a low incidence of oxidative stress associated cardiovascular diseases. In particular, olive oil, which is the most consumed alimentary fat in the Mediterranean diet, is discussed to be cardio protective. Besides its high monounsaturated fatty acid content olive oil contains a remarkable amount of phenolic compounds. Results from *in vitro* and animal studies suggest that these phenols are powerful antioxidants. Thus, consumption of olive oil phenols also could inhibit oxidative damage *in vivo* and therefore could reduce the risk of cardiovascular diseases.

OBJECTIVE: To investigate the cardioprotective effect of olive oil and its phenolic compounds in healthy German men.

METHODS: Therefore, a randomised, cross-over, double-blind intervention trial in 70 healthy men aged 20 - 60 years from the Berlin-Brandenburg area was conducted. Subjects were randomised for three periods of three weeks to replace their usually consumed fat by daily 25 ml of virgin (high-phenolic), common (medium-phenolic) and refined (low-phenolic) olive oil, which vary only in their content of phenolic compounds. Each intervention was separated by a two-week wash-out period. Blood lipids, lipid peroxidation biomarker and endogenous antioxidants were assessed at study baseline and the beginning and end of each intervention period.

RESULTS: In the total study population, blood lipids, biomarker of lipid peroxidation and endogenous antioxidants were not affected by the phenolic content of the olive oils administered. Solely, a concentration-dependent increase in glutathion-reductase activity could be observed ($p_{\text{Trend}} = 0.041$). A significant reduction in serum total cholesterol ($p = 0.007$) and triglycerides ($p = 0.013$) after of olive oil consumption was assessed, which was independent from the content of phenolic compounds in the olive oil. This effect goes along with an increased monounsaturated fatty acids proportion in the habitual diet of the subjects as a result of the olive oil consumption ($p < 0.001$).

CONCLUSION: The hypothesis, that phenolic compounds in olive oil due to its antioxidative properties reported in *in vitro* and animal studies provide additional cardioprotective effects besides those attributed to its unique fatty acids profile could not be supported by this study. However, olive oil consumption exert beneficial effects on blood lipids, which could be ascribed to the increased monounsaturated fatty acid content in the diet. Even though olive oil is not the main source of fat in Germany, the interviewed participants showed a high acceptance. Thus, integration of olive oil into the habitual diet could contribute to a risk reduction in cardiovascular diseases among German men.

3 EINLEITUNG

Kardiovaskuläre Erkrankungen zählen weltweit [1] und auch speziell in Deutschland [2] zur häufigsten Todesursache. Jedoch gibt es Regionen, die eine deutlich geringere Mortalität an kardiovaskulären Erkrankungen aufweisen. Dies gilt im Besonderen für die mediterrane Bevölkerung. Erste epidemiologische Hinweise kamen diesbezüglich aus der Sieben-Länder-Studie, die von Ancel Keys Ende der 50er Jahre initiiert wurde. In dieser Kohortenstudie wiesen die zwei griechischen und die drei italienischen Populationen die niedrigsten Mortalitätsraten auf. Auch nach 25 Jahren Follow-up war die Inzidenz an kardiovaskulären Erkrankungen in den südeuropäischen Ländern deutlich geringer als in den teilnehmenden nordeuropäischen Regionen. [3] Die aus der Sieben-Länder-Studie ermittelte Tendenz spiegelt sich ebenfalls in den Mortalitätsstatistiken der Weltgesundheitsorganisation wider [4]. Aus diesen epidemiologischen Daten entwickelte sich die Hypothese, dass die Ernährungsweise der mediterranen Bevölkerung ausschlaggebend für die niedrige Inzidenz- und Mortalitätsrate ist und folglich eine kardioprotektive Wirkung aufweist. Diese Hypothese wurde durch eine Vielzahl von Studien [5-7] weiter erhärtet.

Als traditionelle mediterrane Ernährung wird die habituelle Kost der Bevölkerung in den Oliven anbauenden Gebieten der mediterranen Länder Ende der 50er und Anfang der 60er Jahre definiert. Diese Ernährungsweise zeichnete sich durch einen vermehrten Verzehr von pflanzlichen Lebensmitteln (Obst, Gemüse, Getreideprodukte, Kartoffeln, Hülsenfrüchte, Nüsse und Samen), Olivenöl als Hauptfettlieferant, moderaten Konsum von Fisch und Geflügel, geringen Verzehr von rotem Fleisch und moderaten Genuss von Wein aus. Zusätzlich wies die mediterrane Bevölkerung eine regelmäßige hohe körperliche Aktivität auf. [8] Dieses komplexe Gebilde des traditionellen mediterranen Lebensstils wirft die Frage auf, ob die beschriebene kardioprotektive Wirkung auf der Summe ihrer Komponenten beruht oder eher auf Einzelbestandteile zurückzuführen ist. In diesem Zusammenhang wird vor allem dem Olivenöl eine Schlüsselrolle in der kardioprotektiven Wirkung der mediterranen Ernährung zugesprochen.

Olivenöl ist mit einer Verzehrsmenge von 30 - 50 g pro Tag der wichtigste Bestandteil der Fettzufuhr in der mediterranen Region [9]. Im Fettverzehr nordeuropäischer Länder dominieren demgegenüber tierische Fette [8]. Olivenöl weist aufgrund seines hohen Gehaltes an einfach ungesättigten Fettsäuren, speziell der Ölsäure, ein einzigartiges Fettsäuremuster auf. Daraus ergibt sich ein günstiges Verhältnis von einfach ungesättigten Fettsäuren zu gesättigten Fettsäuren (2 - 4 zu 1), welches sich gemäß zahlreicher Studienergebnisse positiv auf den Lipidspiegel im Blut auswirkt [10-12]. Neben diesem besonderen Fettsäureprofil ist Olivenöl reich an phenolischen Verbindungen, zu denen vor allem die Derivate von Oleuropein und Ligstroside sowie deren Hydrolyseprodukte Hydroxytyrosol und Tyrosol zählen [13]. Diesen Verbindungen wird eine antioxidative Wirkung zugesprochen. So zeigten *in vitro* Studien, dass die phenolischen Komponenten aus dem Olivenöl als Radikalfänger für verschiedene reaktive Sauerstoffspezies fungieren [14, 15], LDL vor Oxidation schützt [16, 17], und demnach auch die Bildung von Isoprostanen und anderen Markern der Lipidperoxidation signifikant inhibiert [18]. Ebenso wurden antiinflammatorische und antithrombotische Eigenschaften [19] sowie ein positiver Effekt auf die arterielle Endothelfunktion beobachtet [20].

Kardiovaskuläre Erkrankungen zählen zu den mit oxidativem Stress assoziierten Erkrankungen. Dabei liegt häufig der Prozess der Arteriosklerose zugrunde. [9] Die Oxidations-Hypothese in der Pathogenese der Arteriosklerose betrachtet die oxidative Modifizierung des LDL und dadurch Akkumulation in den Makrophagen in der Arterienwand als obligatorischen Schritt in der Bildung arteriosklerotischer Läsionen [21]. Ausgehend von dieser Hypothese könnten die Phenole aus dem Olivenöl aufgrund ihrer antioxidativen und zusätzlich beschriebenen antiinflammatorischen und antihämorrhagischen Eigenschaften eine kardioprotektive Wirkung ausüben und den Prozess der Arteriosklerose verzögern. Demnach würde der hohe Konsum von Olivenöl in den mediterranen Ländern und die damit einhergehende erhöhte Aufnahme phenolischer Komponenten einen gesundheitlichen Nutzen in sich bergen und eine mögliche Erklärung für die niedrigere Inzidenz an kardiovaskulären Erkrankungen in dieser Region liefern. Jedoch ist der Wissensstand aus kontrollierten randomisierten Interventionsstudien bezüglich der *in vivo* Wirkung der phenolischen Komponenten bei Olivenölverzehr begrenzt und kontrovers.

Einen Beitrag zur Klärung der *in vivo* Effekte der Phenole im Olivenöl auf oxidative Schädigungen soll die vorliegende Arbeit leisten. Im Rahmen einer randomisierten doppelt-verblindeten cross-over Interventionsstudie an gesunden Männern einer deutschen Population wurden die physiologischen Wirkungen des jeweils dreiwöchigen Verzehrs von nativem, gemischtem und raffiniertem Olivenöl untersucht. Das Studiendesign ermöglicht die Differenzierung der Effekte von Olivenöl mit hohem und mittlerem Gehalt an phenolischen Verbindungen und phenolfreiem Olivenöl. Folglich kann eine Aussage speziell über die Wirkung der Phenole unabhängig vom Fettsäureprofil des Olivenöles getroffen werden.

4 THEORETISCHE GRUNDLAGEN

4.1 Arteriosklerose und kardiovaskuläre Erkrankungen

4.1.1 Definitionen

Die Arteriosklerose wird umgangssprachlich als Arterienverkalkung bezeichnet. Sie ist die häufigste chronisch fortschreitende Systemerkrankung der Arterien, die mit degenerativen Veränderungen der Gefäßwand einhergeht. Laut der Weltgesundheitsorganisation wird die Arteriosklerose als variable Kombination von Intimaveränderungen der Arterien, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia definiert. Die stattfindenden Veränderungen führen zu einer Verhärtung, Verdickung und Deformierung der Gefäßwand mit einhergehendem Elastizitätsverlust und Verengung des Gefäßlumens. Die Pathogenese der Arteriosklerose beginnt meist im zweiten oder dritten Lebensjahrzehnt und kann Jahrzehnte andauern, manifestiert sich aber oft erst in der zweiten Lebenshälfte. Die Arteriosklerose verursacht ischämische Folgeerkrankungen des Herzens, Gehirns oder anderer Organe sowie der Extremitäten. [22, 23]

Unter der Bezeichnung „kardiovaskuläre Erkrankung“ (CVD) werden eine Reihe von krankhaften Veränderungen des Herz-Kreislaufsystems zusammengefasst bei denen überwiegend arteriosklerotische Geschehen zugrunde liegen. Inbegriffen sind z.B. periphere arterielle Erkrankungen, Thrombose, Lungenembolie, Apoplex sowie pathologische Veränderungen des Herzens wie rheumatische Herzerkrankung, koronare Herzerkrankung (KHK), chronische Herzinsuffizienz oder angeborene Herzfehler. [1] KHK basiert auf arteriosklerotischen Veränderungen und besitzt aufgrund der höchsten Inzidenzrate innerhalb der CVD eine besondere Bedeutung. Bedingt durch die Einengung oder den Verschluss der Koronarien kommt es zu einer Minderdurchblutung und damit einhergehend dezimierten Zufuhr von energieliefernden Substraten und Sauerstoff zum Herzmuskel. Die Ausbildung einer Koronarinsuffizienz ist die Folge des auftretenden Missverhältnisses zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot im Herzmuskel. Die dadurch hervorgerufene Myokardischämie äußert sich in verschiedenen Manifestationsformen: Angina pectoris, Myokardinfarkt, ischämische Herzmuskelschädigung, Herzrhythmusstörungen und plötzlicher Herztod. [23]

4.1.2 Epidemiologie kardiovaskulärer Erkrankungen

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind mit 16,7 Mio. Todesfällen (ca. 1/3 aller Todesfälle) im Jahr 2002 weltweit die häufigste Todesursache. Davon entfallen 7,2 Mio. auf KHK, 5,5 Mio. auf zerebrovaskuläre Erkrankungen (z.B. Apoplex), 0,9 Mio. auf hypertensive, 0,4 Mio. auf inflammatorische, 0,3 Mio. auf rheumatische Herzerkrankungen und 2,4 Mio. auf sonstige Formen. [1] Die hohe Inzidenz von CVD ist nicht länger nur typisch für Industrienationen, sondern verzeichnet vor allem in den Entwicklungs- und Schwellenländern einen rasanten Anstieg. So wurden bereits im Jahr 2002 ungefähr 80 % aller weltweiten Todesfälle an CVD in diesen Ländern verzeichnet. [1, 24] Ein Blick auf die Mortalitätsstatistik in Deutschland zeigt, dass auch hier CVD

die Haupttodesursache darstellen. Demnach zählten im Jahr 2004 chronische ischämische Herzkrankheit (10,3 %), akuter Myokardinfarkt (7,5 %), Herzinsuffizienz (5,9 %) und Apoplex (3,9 %) zu den fünfthäufigsten Todesursachen [2]. In den mediterranen Regionen ist dagegen die Mortalität an CVD geringer. So war beispielsweise die Mortalitätsrate zwischen 1970 und 1995 in Griechenland und Italien um 60 - 70 % niedriger als in Großbritannien. [4] Auch die Ergebnisse der Sieben-Länder-Studie dokumentieren niedrigere Mortalitätsraten in den europäischen mediterranen Ländern als in den nordeuropäischen Ländern [3].

Der weltweite Anstieg an kardiovaskulären Erkrankungen geht einher mit Veränderungen der Ernährungsgewohnheiten, der körperlicher Aktivität und dem Rauchverhalten resultierend aus der zunehmenden Industrialisierung, Urbanisierung, wirtschaftlichen Fortschritts und der Globalisierung des Lebensmittelmarktes [24]. Zu den Hauptrisikofaktoren in den Industrienationen zählen somit Rauchen (12,2 %), Hypertonie (10,9 %), Alkoholkonsum (9,2 %), erhöhter Cholesterinspiegel (7,6 %), Übergewicht (7,4 %), niedriger Obst- und Gemüseverzehr (3,9 %) und körperliche Inaktivität (3,3 %) [1]. Eine detaillierte Zusammenfassung über modifizierbare und nicht-modifizierbare Risikofaktoren ist in der nachfolgenden Tabelle 4.1 ersichtlich.

Tab. 4.1: Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen [1]

Bedeutende modifizierbare Risikofaktoren	
<ul style="list-style-type: none"> • Hypertonie ist Hauptrisikofaktor für Myokardinfarkt und Apoplex • Blutfette hoher tChol-, LDL- und TG-Spiegel und niedriger HDL-Spiegel erhöhen das KHK- und Apoplex-Risiko • Rauchen erhöht das CVD-Risiko, vor allem bei einem frühzeitigen Beginn und bei starken Rauchern, passiv rauchen stellt ein zusätzliches Risiko dar • körperliche Inaktivität erhöht Risiko für KHK und Apoplex um 50 % 	<ul style="list-style-type: none"> • Übergewicht ist Hauptrisikofaktor für KHK und Diabetes mellitus • unausgewogene Ernährung es wird geschätzt, dass ein geringer Obst- und Gemüseverzehr weltweit 31 % der KHK und 11 % der Apoplex verursacht; hohe Zufuhr an gesättigten Fettsäuren erhöht das Risiko für CVD und Apoplex • Diabetes mellitus ist Hauptrisikofaktor für KHK und Apoplex
Weitere modifizierbare Risikofaktoren	
<ul style="list-style-type: none"> • geringer sozioökonomischer Status invers korreliert mit dem CVD- und Apoplex-Risiko • psychische Erkrankungen Depressionen sind mit einem erhöhten Risiko für KHK assoziiert • psychosozialer Stress chronischer Stress, soziale Isolation und Angstgefühle erhöhen das CVD- und Apoplex-Risiko • Alkoholkonsum hoher Alkoholkonsum schädigt den Herzmuskel 	<ul style="list-style-type: none"> • Einnahme verschiedener Medikamente einige orale Kontrazeptiva und Hormonersatztherapie erhöhen das Risiko für CVD • Lipoprotein a erhöht das Risiko für Myokardinfarkt, vor allem bei gleichzeitig erhöhtem LDL-Spiegel • linksventrikuläre Hypertrophie Biomarker für CVD
Nicht-modifizierbare Risikofaktoren	
<ul style="list-style-type: none"> • Alter unabhängiger Risikofaktor für CVD; ab einem Alter von 55 Jahren verdoppelt sich jedes Jahrzehnt das Risiko für Apoplex • Vererbung / Familienanamnese erhöhtes Risiko, wenn ein Blutverwandter ersten Grades KHK oder Apoplex vor einem Alter von 55 Jahren (für weibliche Verwandte) oder 65 Jahren (für männliche Verwandte) hat 	<ul style="list-style-type: none"> • Geschlecht Männer weisen eine höhere KHK-Rate auf als premenopausale Frauen • Volkszugehörigkeit und Rasse erhöhtes Apoplex-Risiko wurde bei Afro- und Lateinamerikanern, Chinesen und Japanern festgestellt; erhöhte Mortalität durch CVD im Vergleich zu den Kaukasiern wurden bei Südasiaten und Afroamerikanern beobachtet

Tab. 4.1: - Fortsetzung -

„neuartige“ Risikofaktoren	
<ul style="list-style-type: none"> • Homocystein hohe Homocysteinspiegel sind mit einem erhöhten CVD-Risiko assoziiert • Entzündungsprozesse verschiedene Entzündungsmarker sind mit einem erhöhten CVD-Risiko assoziiert z.B. C-reaktives Protein 	<ul style="list-style-type: none"> • Blutgerinnung erhöhte Blutspiegel von Fibrinogen und anderen Blutgerinnungsmarkern erhöhen das CVD-Risiko

tChol - Gesamtcholesterin, HDL - high density lipoprotein, LDL - low density lipoprotein, TG - Triglyzeride, KHK - koronare Herzerkrankung, CVD - kardiovaskuläre Erkrankung

4.1.3 Pathogenese der Arteriosklerose

Der Arteriosklerose liegt ein multifaktorieller pathogener Prozess zugrunde, der zu einer degenerativen Veränderung der Gefäßwand führt. Gesunde Arterien weisen drei morphologische Schichten auf: Adventitia, Media und Intima. Die äußere Struktur der Gefäßwand, Adventitia (*Tunica adventitia*), dient der Verankerung des Blutgefäßes in seiner Umgebung und wird aus Bindegewebe mit zwischengelagerten Fibroblasten und glatter Muskulatur geformt. Die Media (*Tunica media*) bildet die mittlere Schicht der Gefäßwand und besteht aus Zellen der glatten Muskulatur. Die innerste Schicht, die Intima (*Tunica intima*), wird auf der luminalen Seite durch einschichtige Endothelzellen und auf der apikalen Seite durch elastische Fasern begrenzt, die vorwiegend Proteoglykane und Kollagen beinhalten. Die Endothelzellen fungieren als selektive permeable Barrieren zwischen Blut und Gewebe. [25]

Nach der Response-to-Injury-Hypothese initiiert die Abtragung und Verletzung der Endothelzellen, resultierend in einer endothelialen Dysfunktion, das pathogene Geschehen der Arteriosklerose [26-28]. Regionen mit endothelialer Dysfunktion manifestieren sich vorwiegend in arteriellen Verzweigungen und Krümmungen. Diese Endothelzellen weisen eine erhöhte Permeabilität für Makromoleküle wie z.B. LDL auf. [29] Aufgrund passiver Diffusion gelangt das LDL durch die Tight Junctions der Endothelschicht in die Intima, wo es sich anreichert [25]. Dort unterliegt LDL oxidativen, lipolytischen und proteolytischen Reaktionen [30].

Die oxidative Modifikation der Lipoproteine wird in der Oxidations-Hypothese als wichtigster und kritischster Schritt der Pathogenese der Arteriosklerose beschrieben [21, 31]. Oxidativ modifizierte Lipoproteine entstehen zum einen durch Reaktion mit reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) [30]. Dabei reagieren die ROS mit den unterschiedlichen Bestandteilen des LDL-Partikels: Apolipoprotein B100, Triglyzeride, Phospholipide, Cholesterin [21, 32]. Zum anderen fördern verschiedenen Enzymsysteme (Sphingomyelinase, sekretorische Phospholipase A2, Myeloperoxidase, NADPH-Oxidase) die Oxidation von Lipoproteinen [25]. Solche Oxidationsvorgänge können zellvermittelt stattfinden, was für die folgenden Zellen der Arterienwand bereits gezeigt werden konnte: Endothelzellen, glatte Muskelzellen [33], Monozyten [34] und Makrophagen [35]. Oxidative Modifikationen scheinen vorwiegend direkt in der Intima vorzukommen. Oxidationsvorgänge im Blutkreislauf sind eher unwahrscheinlich aufgrund des hohen Anteils an Antioxidantien und der Filtervorgänge von oxidiertem LDL durch die hepatischen Sinuidzellen. [21, 36]

Die oxidativen Veränderungen wirken sich auf die Eigenschaften der LDL-Partikel aus. So weist oxidiertes LDL inflammatorische, chemotaktische, zytotoxische und thrombotische Wirkungen auf, die die Entwicklung arteriosklerotischer Geschehen fördern. Schon minimal oxidiertes LDL besitzt atherogene Eigenschaften. Es stimuliert die Monozytenadhäsion an den Endothelzellen [28, 37], indem die endotheliale Expression von Adhäsionsmolekülen gesteigert wird. Zu diesen Molekülen zählen z.B. interzelluläres Zelladhäsionsmolekül-1, vaskuläres Zelladhäsionsmolekül, Plättchen-Endothelzell-Adhäsionsmolekül-1, Endothel-Leukozyten-Adhäsionsmolekül-1, P- und E-Selektin. [25, 28, 38, 39]. Zusätzlich werden die Endothelzellen angeregt, chemotaktische Proteine (z.B. Monozyten chemotaktisches Protein-1) [40] und Wachstumsfaktoren (z.B. *engl.* Macrophage colony-stimulating factor) [41] zu bilden, die die Infiltration der Monozyten in die Intima und deren Differenzierung zu Makrophagen initiieren [25]. Zusätzlich hemmt oxidiertes LDL die Migration der Monozyten in das Blut [28, 42]. Ebenfalls soll es die Toll-like-Rezeptoren der Makrophagen aktivieren [43]. Diese Rezeptoren initiieren in den Makrophagen die Produktion von inflammatorischen Zytokinen, Proteasen und zytotoxischen Sauerstoff- und Stickstoffradikalen [44]. Zusätzlich wirkt oxidiertes LDL auf die Zellen der glatten Muskulatur, die eine Stimulation zur Bildung chemotaktisch wirksamer Signalstoffe erfahren. Oxidiertes LDL erhöht außerdem die Permeabilität der Endothelzellen, wodurch die Migration weiterer Makromoleküle erleichtert wird [45]. Des Weiteren inhibiert es in den Endothelzellen die Produktion von Stickstoffmonoxid (NO) [25], welches als Vasodilator wirkt und die Thrombozytenaggregation hemmt [28]. Die Tabelle 4.2 gibt einen Überblick über die in der Literatur beschriebenen Eigenschaften von oxidiertem LDL, die aus den oxidativen Modifikationen resultieren.

Mit fortschreitender Oxidation verliert das LDL aufgrund der gleichzeitigen Modifizierung des Apolipoprotein B, welches die Erkennung an den LDL-Rezeptor vermittelt, die Bindungsfähigkeit an den LDL-Rezeptor. Der Funktionsverlust kommt durch die Neutralisation der positiv geladenen Aminosäuregruppen des Apolipoprotein B durch modifizierte Lipide zustande. [46] Gleichzeitig erhöht sich die Affinität für den Scavenger-Rezeptor der Makrophagen [28], deren Expression durch Zytokine (Tumornekrosefaktor- α , Interferon- γ) vermittelt wird [25]. Im Gegensatz zum LDL-Rezeptor wird der Scavenger-Rezeptor nicht über die Cholesterinkonzentration in der Zelle reguliert. Dies hat eine Lipidanreicherung in den Makrophagen zur Folge und führt zur Schaumzellbildung. [31] Die Schaumzellen sind ebenfalls in der Lage, ROS zu bilden, die die Lipidperoxidation weiter vorantreiben [45]. Durch die Anreicherung von Schaumzellen entstehen sogenannten Fettstreifen. Diese sind klinisch nicht auffällig, können sich allerdings zu Läsionen weiterentwickeln [25]. Die Nekrose der Schaumzellen, initiiert durch modifiziertes LDL, verursacht eine Anhäufung extrazellulärer Lipide, lysosomaler Enzyme und nekrotischer Zellreste [47]. Durch die Freisetzung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren der Makrophagen und T-Lymphozyten kommt es zur Migration und Proliferation der glatten Muskelzellen, die in der Intima akkumulieren und das Gefäßlumen einengen. Die Zellen der glatten Muskulatur sezernieren extrazelluläre Matrix, was zur Bildung einer faserigen Kappe über dem nekrotischen Gewebe führt. Es entsteht ein atheromatöser Plaque. [25]

Tab. 4.2: Eigenschaften, durch die sich oxidierte von nativen LDL unterscheiden
[modifiziert nach 48, 49, 50]

Chemisch / physikalische Eigenschaften
<ul style="list-style-type: none"> • Verlust von Antioxidantien, PUFA, Phosphatidylcholin, Cholesterolester • zunehmender Gehalt an Lysophosphatidylcholin, Oxysterole, Hydroxyfettsäuren, konjugierten Dienen, Malonaldehyd, 4-Hydroxynonenal, Hexanal und anderer Aldehyde • stark flureszierend bei 430 nm • partieller Verlust freier Aminogruppen des Apolipoprotein B • Fragmentierung des Apolipoprotein B in kleinere Peptide • erhöhte elektrophoretische Mobilität und Dichte (1,06 - 1,08 g/cm³) • erhöhte Tendenz zur Akkumulation • Konformationsänderung der Apolipoprotein B-Struktur und der Phospholipidschicht
Biologische Eigenschaften
<ul style="list-style-type: none"> • unregulierte Aufnahme und Abbau durch Makrophagen • zytotoxisch gegenüber Fibroblasten, Endothelzellen und Zellen der glatten Muskulatur • chemotaktisch für Monozyten/Makrophagen, T-Lymphozyten und Zellen der glatten Muskulatur • hemmt die endothelabhängige arterielle Relaxation durch Inhibierung der NO-Aktivierung und Stimulation der Endothelin-1-Sekretion • induziert die Bildung von Antikörpern • erhöht den Glutathiongehalt in den Makrophagen • hemmt die Produktion des PDGF bei Monozyten und Endothelzellen • hemmt die TNF-Expression und stimuliert die Freisetzung von IL-1 und IL-8 in den Makrophagen • hemmt die Beweglichkeit der Makrophagen/Monozyten und somit deren Migration in den Blutkreislauf • steigert Thrombozytenaggregation • minimal oxidiertes LDL stimuliert die Produktion von biologisch aktiven Faktoren (bspw. MCP-1, ELAM-1, M-CSF, G-CSF) in den Endothelzellen • minimal oxidiertes LDL erhöht die Monozytenadhäsion an Endothelzellen • minimal oxidiertes LDL hemmt die Mitogenese der glatten Muskelzellen

PDGF - *engl.* Platelet-derived growth factor; TNF - Tumornekrosefaktor, IL - Interleukin, MCP-1 - Monozyten chemotaktisches Protein-1, ELAM-1 - Endothel-Leukozyten-Adhäsionsmolekül-1, M-CSF - *engl.* Macrophage colony-stimulating factor, G-CSF - *engl.* Granulocyte colony-stimulating factor, PUFA - mehrfach ungesättigte Fettsäuren

Die Läsion wächst bis zu einem bestimmten Punkt in die Adventitia hinein und dehnt sich nach innen ins Gefäßlumen aus [25]. Die Gefäßstenose wird durch den fortschreitenden Entzündungsprozess und die damit einhergehende Migration von Makrophagen und T-Lymphozyten sowie Bildung extrazellulärer Matrix und Anreicherung extrazellulärer Lipide weiter gefördert [25, 51]. Besonders rupturanfällig sind die Läsionsränder und Läsionen, die von einer dünnen fastrigen Kappe umschlossen sind und eine erhöhte Anzahl inflammatorischer Zellen aufweisen [25]. Die Bildung eines Thrombus resultiert überwiegend (60 - 70 %) aus der Ruptur einer Läsion und nur zu geringerem Umfang durch endotheliale Erosion. Bei einer Ruptur wird thrombotisches Material aus dem Inneren der Plaque ins Blut abgegeben. Thromben können die Verstopfung der Blutgefäße verursachen und somit zu einem Myokardinfarkt führen. [52] Eine vereinfachte Darstellung der pathogenen Mechanismen der Arteriosklerose ist in Abbildung 4.1 veranschaulicht.

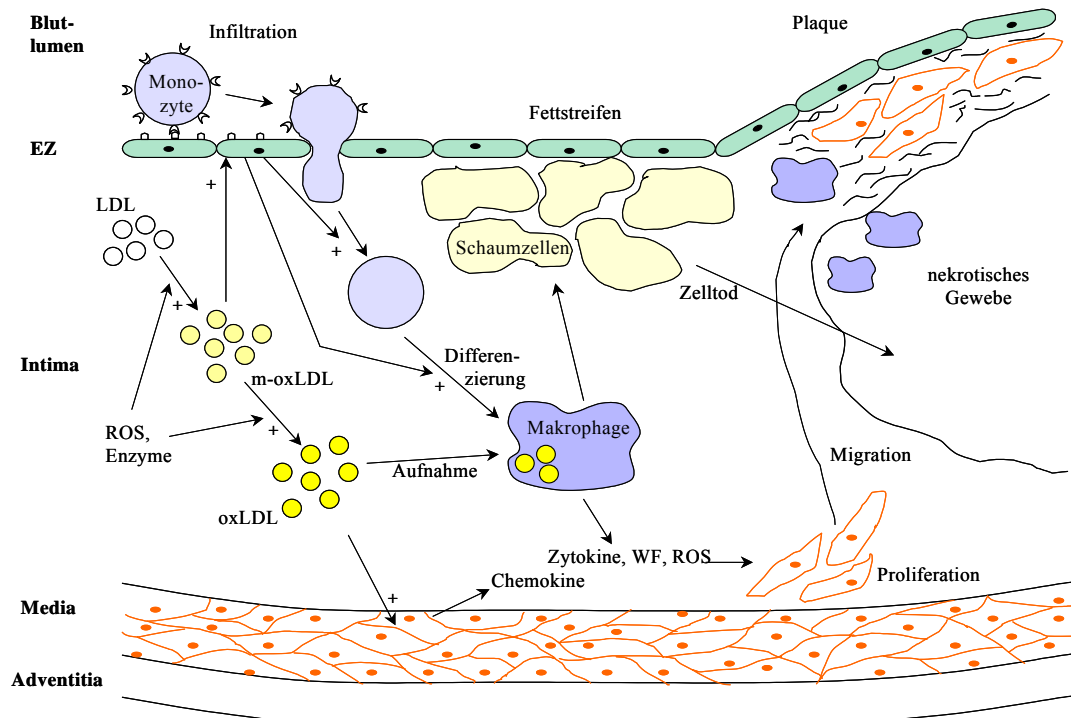


Abb. 4.1: Vereinfachte Darstellung der Pathogenese der Arteriosklerose

Infiltrierte LDL-Partikel unterliegen in der Intima, induziert durch ROS und oxidative Enzyme, oxidativen Modifikationen. Modifizierte LDL stimulieren die Monozytenadhäsion an die Endothelzellen und initiieren in diesen die Bildung chemotaktischer Substanzen, die die Infiltration der Monozyten und deren Differenzierung zu Makrophagen fördern. Mit fortschreitendem Oxidationsgrad verliert LDL die Fähigkeit an den LDL-Rezeptor zu binden, dafür nimmt die Affinität an den Scavenger-Rezeptor der Makrophagen zu. Da dessen Aktivität nicht durch eine Rückkopplungshemmung reguliert wird, erfolgt eine unkontrollierte Lipidaufnahme in die Makrophagen. Letztere konvertieren zu Schaumzellen und bilden bei Anreicherung Fettstreifen. Resultierend aus der oxidierten LDL-induzierten Nekrose der Schaumzellen, Proliferation und Migration der glatten Muskelzellen kommt es zur atheromatösen Plaquebildung. Der fortschreitende Entzündungsprozess fördert die weitere Migration inflammatorischer Zellen, die Thrombozytenaggregation und folglich die Gefäßstenose. Abkürzungen: EZ - Endothelzellen, ROS - reaktive Sauerstoffspezies, m-oxLDL - minimal oxidiertes LDL, oxLDL - oxidiertes LDL, WF - Wachstumsfaktoren, + - Stimuli

4.2 Redox-Status – oxidativer Stress, reaktive Sauerstoffspezies, Antioxidantien

Die Verwendung von Sauerstoff zur vollständigen Oxidation von Nährstoffen und somit Verbesserung der Effizienz der biologischen Energieversorgung im Vergleich zur Fermentation und anaeroben Energiegewinnung stellte eine der wichtigsten Voraussetzung für die Entstehung höherer Lebensformen dar [53, 54]. In der Atmungskette wird in einem Energie gewinnenden Prozess Sauerstoff durch gleichzeitige Verbindung mit vier Elektronen zu Wasser umgewandelt. In 1 - 3 % ist diese Reaktion fehlerhaft und es verbinden sich zu wenige Elektronen mit dem Sauerstoff. Dabei entstehen freie Radikale und reaktive Sauerstoffspezies (ROS). [55, 56] Außer in physiologischen Prozessen, wie in der mitochondrialen Atmung, entstehen ROS auch bei pathophysiologischen Prozessen, wie bei Entzündungen, Ischämie-Reperfusion oder im Fremdstoffmetabolismus [57]. Diese Verbindungen erfüllen einerseits in unserem Organismus

wichtige biologische Funktionen. Andererseits sind sie aber auch in der Lage Lipide, Proteine, Kohlenhydrate und Nucleinsäuren oxidativ zu modifizieren und somit funktionell zu beeinträchtigen [56, 58]. Der Organismus besitzt ein vielfältiges Arsenal enzymatischer und nicht-enzymatischer antioxidativer Schutzmechanismen, die auf den Ebenen der Prävention, Inhibierung und Reparatur gegen Oxidantien wirksam werden [58, 59].

Der antioxidative Status spiegelt folglich die Balance zwischen der Bildung von ROS und den antioxidativen Schutzmechanismen im Organismus wider. Dieser Status ist dynamisch und wird durch zahlreiche Faktoren wie Ernährung, Umwelteinflüsse, körperliche Aktivität und Erkrankungen beeinflusst. [54, 60] Übersteigt die Radikalgenerierung die antioxidative Kapazität des Organismus, spricht man von oxidativem Stress [61, 62]. Dieser kommt durch exzessive Bildung von ROS und freien Radikalen und/oder durch Schwächung des antioxidativen Systems aufgrund einer verminderten Aufnahme von Antioxidantien über die Nahrung oder einer verringerten endogenen Produktion zustande [60, 62]. Die Akkumulation von oxidativen Schädigungen und den damit einhergehenden Funktionsstörungen der betroffenen Zellbestandteile durch oxidativen Stress ist mit dem pathologischen Geschehen einer Vielzahl von Erkrankungen wie z.B. Arteriosklerose, Karzinogenese, Diabetes mellitus und neurodegenerativen Erkrankungen assoziiert [56, 63-67].

4.2.1 Freie Radikale und reaktive Sauerstoffspezies

4.2.1.1 Definitionen und endogene Bildung

Als freie Radikale werden chemisch definierte Spezies (Atome, Moleküle, Ionen) bezeichnet, die ein oder mehrere ungepaarte Elektronen besitzen. Das ungepaarte Elektron besetzt dabei ein Atom- oder Molekülorbital allein. Dieser Zustand ist energetisch sehr instabil und führt zu dem Bestreben, Elektronen von anderen Substanzen für die Bildung eines Elektronenpaares zu extrahieren. Folglich sind freie Radikale sehr reaktionsfreudige Verbindungen mit einer niedrigen Halbwertszeit. [56, 68] Vereinfacht gesehen, können freie Radikale über drei Wege entstehen: aus neutralen Molekülen durch Abgabe oder Aufnahme eines Elektrons und durch homolytische Spaltung einer kovalenten Bindung unter Energieverbrauch. Sie können somit anionisch, kationisch oder neutral sein. [68]

Der Terminus ROS umfasst zum einen Radikale und zum anderen nicht-radikalische Verbindungen. Letztere besitzen selbst eine oxidierende Wirkung und/oder können einfach in Radikale umgewandelt werden. [62] Die Bezeichnung „reaktiv“ stellt nicht immer eine adäquate Bezeichnung dar. So zeigen Superoxidanionen, Wasserstoffperoxide und Stickstoffoxide eine schnelle Reaktion nur bei einer geringen Zahl an Molekülen. Hydroxylradikale dagegen reagieren mit fast allen Zielstrukturen sehr schnell. Peroxyl- und Alkoxyradikale, Stickstoffdioxide und Peroxynitrite weisen wiederum intermediäre Reaktionsgeschwindigkeiten auf. [62, 69]

Molekularer Sauerstoff ist ein Biradikal, da beide Sauerstoffatome in den äußeren Molekülorbitalen je ein ungepaartes Elektron besitzen. Beide Elektronen sind parallel ausgerichtet, d.h. sie besitzen

einen parallelen Spin (daher die Bezeichnung Triplett-Sauerstoff, $^3\text{O}_2$). Diese Anordnung versetzt den molekularen Sauerstoff in einen relativ stabilen und reaktionsträgen Zustand. Durch Spinkonversion eines der beiden ungepaarten Elektronen des molekularen Sauerstoffs kommt es zur Bildung des reaktionsfreudigen Singulett-Sauerstoffs ($^1\text{O}_2$), der sich durch einen antiparallelen Spin kennzeichnet. [68-70] Die schrittweise Ein-Elektronen-Reduktion des molekularen Sauerstoffs zu Wasser in der mitochondrialen Atmungskette kann zur Bildung der ROS Superoxidanion ($\text{O}_2^{\bullet-}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Hydroxylradikal (HO^{\bullet}) führen [54, 68], wie Abbildung 4.2 verdeutlicht. Neben diesen genannten ROS entstehen im Organismus eine Reihe weiterer wichtiger radikalischer und nicht-radikalischer Sauerstoffspezies unterschiedlichen Ursprungs. Zu diesen zählen u.a. Perhydroxylradikale (HO_2^{\bullet}), Alkoxyradikale (RO^{\bullet}), Peroxylradikale (ROO^{\bullet}), Hydroperoxide (ROOH), Stickstoffoxide (NO^{\bullet}), Stickstoffdioxide (NO_2^{\bullet}), Peroxynitrite (ONOO^-) und Peroxynitritsäure (ONOOH). [59, 62] Letztere, Stickstoff enthaltende Spezies, werden auch als reaktive Stickstoffspezies zusammengefasst. Bei einer vermehrten Bildung von reaktive Stickstoffspezies wird demzufolge nicht mehr von oxidativem, sondern von nitrosativem Stress gesprochen. [58, 71]

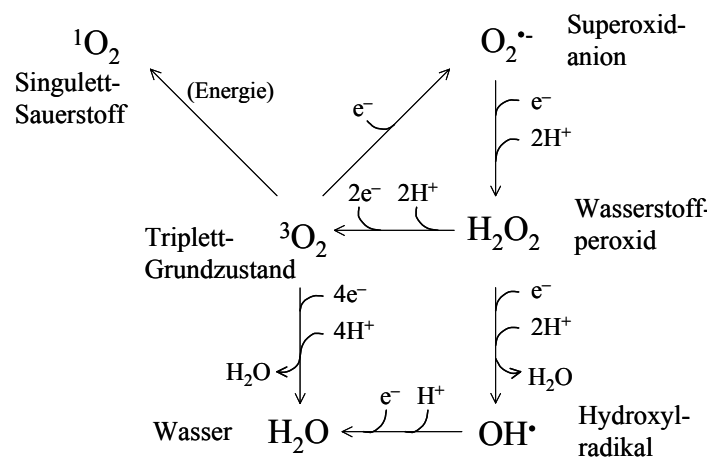


Abb. 4.2: Aktivierung des molekularen Sauerstoffs [68]

Molekularer Sauerstoff besitzt einen Triplett-Grundzustand, der sich durch einen parallelen Spin kennzeichnet. Diese Anordnung der Elektronen versetzt Sauerstoff in einen reaktionsträgen Zustand. Erst durch Aufnahme von Elektronen oder Zufuhr von Energie wird Sauerstoff aktiviert. Resultierend aus der schrittweisen Ein-Elektronen-Reduktion des Sauerstoffs entstehen die reaktiven Sauerstoffspezies Superoxidanion, Wasserstoffperoxid und Hydroxylradikal und schließlich Wasser. Eine weitere Möglichkeit der Sauerstoffaktivierung ist die Komplexbildung mit Übergangsmetallionen (nicht dargestellt) und die Bildung von Singulett-Sauerstoff durch Spininversion bei Energiezufuhr.

Neben dem bereits erwähnten membrangebundenen Enzym- und Elektronentransportsystem zur Energiegewinnung in Form von Adenosintriphosphat in den Mitochondrien entstehen ROS auch im katalytischen Kreislauf prooxidativer Enzyme. Dazu zählen u.a. Xanthin-Oxidase [67, 72], NO-Synthase, Prostaglandinsynthase [73], Hämoglobinoxidase [74], Myeloperoxidase [72], NAD(P)H-Oxidase, Cytochrom P450-abhängige Monooxygenasen, Cyclooxygenase, und Lipoxxygenase [69, 73]. In die Bildung von ROS in der Gefäßwand sind vor allem die NAD(P)H-

Oxidase, Xanthin-Oxidase, NO-Synthase, Myeloperoxidase und die Lipoxygenase involviert [75]. Die Aktivierung von molekularem Sauerstoff erfolgt außerdem durch Autoxidationsreaktionen reduzierter Zwischenprodukte des Stoffwechsels. Zu diesen autoxidablen Verbindungen gehören Semichinone, Flavine, Catecholamine, Glutathion und andere Thiole, Hämoglobin und andere Komplexe von Übergangsmetallen. Neben diesen physiologischen können auch physikalische Reaktionen, wie z.B. UV-, Röntgen- und ionisierende Strahlung, die Ein-Elektronenreduktion von molekularem Sauerstoff zu Superoxidanion induzieren. [68, 76] Die nachfolgende Tabelle 4.3 fasst die wichtigsten ROS und ihre Entstehungsmöglichkeiten im Organismus zusammen.

Tab. 4.3: Nomenklatur und Quellen wichtiger reaktiver Sauerstoffspezies
[modifiziert nach 54, 59]

Name	Spezies	Bemerkung / Hauptquellen
Superoxidanion ¹ (Superoxidradikal)	$O_2^{\bullet-}$	Ein-Elektronen-Reduktionszustand; gebildet bei einer Vielzahl von Photooxidationsreaktionen, Mehler Reaktion in den Chloroplasten, mitochondriale Atmungskette, Reaktion von O_3 und OH^{\bullet} , Oxidation von Xenobiotika, beim Schutz vor Krankheitserregern
Wasserstoffperoxid ²	H_2O_2	Zwei-Elektronen-Reduktionszustand; gebildet durch Dismutation des $O_2^{\bullet-}$, Photorespiration, β -Oxidation, Oxidation von Zucker, beim Schutz vor Krankheitserregern
Hydroxylradikal ¹	HO^{\bullet}	Drei-Elektronen-Reduktionszustand; gebildet bei der Haber-Weiss-Reaktion, Fenton-Reaktion; Radiolyse von Wasser, Interaktion von NO mit $O_2^{\bullet-}$, beim Schutz vor Krankheitserregern
Perhydroxylradikal ¹	HOO^{\bullet}	protonierte Form des $O_2^{\bullet-}$, gebildet durch Reaktion von O_3 mit OH^{\bullet}
Singulett-Sauerstoff ²	1O_2	gebildet bei UV-Strahlung, Interaktion zwischen ROO^{\bullet} , Prostaglandinbiosynthese, Phagozytose
Alkoxyradikal ¹	RO^{\bullet}	organisches Radikal; gebildet bei metall-katalysierter Reaktion von H_2O_2 z.B. bei der Lipidperoxidation
Peroxyradikal ¹	ROO^{\bullet}	organisches Radikal; gebildet bei metall-katalysierter Reaktion von H_2O_2 z.B. bei der Lipidperoxidation
Hydroperoxidradikal ²	$ROOH$	protonierte Form des Peroxyradikals; entsteht bei der Lipidperoxidation
Stickstoffoxidradikal ¹	NO^{\bullet}	gebildet durch NO-Synthase, Nitrosothiol, beim Einatmen verschmutzter Luft
Stickstoffdioxidradikal ¹	NO_2^{\bullet}	gebildet bei Reaktion von ROO^{\bullet} mit NO, beim Einatmen verschmutzter Luft und Zigarettenrauch

¹ radikalisch ² nicht-radikalisch

4.2.1.2 Biologische Wirkung

Das biologische Wirkungsspektrum der ROS kann physiologischer und pathophysiologischer Natur sein. Zu den physiologischen Wirkungen gehört die gezielte Synthese von bakterizid wirkenden ROS durch Phagozyten (neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten, Monozyten und Makrophagen), die essentiell für die Abwehr pathogener Keime sind [60, 73]. Diese Zellen bilden in dem als „oxidativen burst“ bezeichneten Prozess mit Hilfe der membranständigen NADH-Oxidoreduktase oder NAD(P)H-Oxidase Superoxidanionen und durch die NO-Synthase Stickstoffoxide. Außerdem entstehen bei diesem Prozess Wasserstoffperoxide durch eine

Superoxid-Dismutase katalysierte Reaktion und hypochlorige Säure (HOCl) aufgrund der Myeloperoxidase-Aktivität in den Phagozyten [69, 77].

Ebenso können ROS eine Schlüsselrolle in der interzellulären Signaltransduktion [54, 58, 64, 67, 78] und der Genexpression darstellen [54, 79, 80]. So konnte bereits gezeigt werden, dass freie Radikale die Freisetzung des Transkriptionsfaktors NF κ B von seinem inhibierenden Protein I κ B im Zytoplasma initiieren. Folglich wird die Translokation von NF κ B in den Nukleus möglich, die Transkription von Akutphase-Mediatoren (z.B. Tumornekrosefaktor- α , Interleukin-2, Interleukin-2-Rezeptor) eingeleitet und inflammatorische Kaskaden ausgelöst. [78, 81]. Weiterhin modulieren ROS die Expression von Strukturgenen, die antioxidative Enzyme kodieren [82]. Außerdem konnte eine regulatorische Funktion der ROS im Prozess der Apoptose nachgewiesen werden [67, 78, 83]. Neben den physiologischen Wirkungen haben die Reaktionen der ROS mit Nukleinsäuren, Proteinen, Kohlenhydraten und Lipiden pathogene Konsequenzen. So umfassen ROS-induzierte oxidative DNS-Schädigungen eine Vielzahl von Modifikationen, zu denen Purin- und Pyrimidin-Modifizierungen sowie Einzel- und Doppelstrangbrüche zählen [84, 85]. Die Akkumulation solcher DNS-Modifikationen wird als entscheidender Schritt in der Karzinogenese diskutiert [65, 66, 86, 87]. Die Oxidation von Proteinen durch ROS kann in einer Denaturierung, Fragmentierung oder im Verlust der Primär- oder Sekundärstruktur resultieren, was ebenfalls mit einem Funktionsdefizit einhergeht [72]. Zu den besonders leicht oxidierbaren Aminosäuren gehören die ungesättigten und schwefelhaltigen Aminosäuren wie beispielsweise Methionin, Histidin, Tryptophan und Cystein. So hat die oxidative Modifizierung des Methionins im aktiven Zentrum des α 1-Antitrypsins Auswirkungen auf die Hemmwirkung der Elastase, was mit der Pathogenese von Lungenemphysemen assoziiert ist. Über die oxidativen Schädigungen der Kohlenhydrate ist nur wenig bekannt und bisher für Hyaluronsäure und Proteoglykane nachgewiesen. [76] Auf die Lipidperoxidation, als vermutlich obligatorischen Schritt in der Pathogenese der Arteriosklerose, soll im folgenden Kapitel detailliert eingegangen werden.

4.2.2 Lipidperoxidation

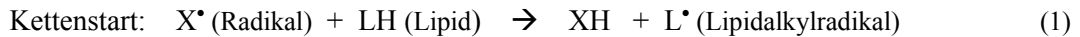
4.2.2.1 Mechanismen der Lipidperoxidation

Die Oxidation der Lipide kann auf drei unterschiedlichen Wegen erfolgen: (1) durch radikalische ROS-induziert, (2) durch nicht-radikalische ROS-induziert und (3) enzymatisch [59, 88].

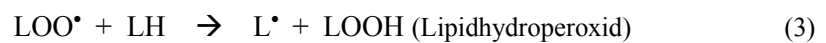
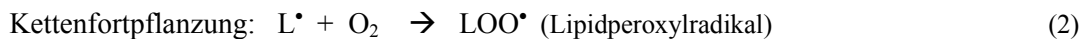
(1) radikalische ROS-induzierte Lipidperoxidation

Durch freie Radikale werden vor allem Lipide modifiziert, die über mehrere Doppelbindungen verfügen, wie mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA) und Cholesterin [68]. Einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA) und gesättigte Fettsäuren (SFA) sind weniger reaktionsfreudig und somit von oxidativen Modifikationen im geringen Ausmaß betroffen [70]. PUFA weisen isolierte Doppelbindungen auf, d.h. zwischen diesen befinden sich mehrere Einzelbindungen. Die zu den Doppelbindungen benachbarten allylischen C-H-Bindungen sind aufgrund der schwächeren kovalenten Bindung besonders oxidationslabil, was die Abspaltung eines Wasserstoffatoms durch

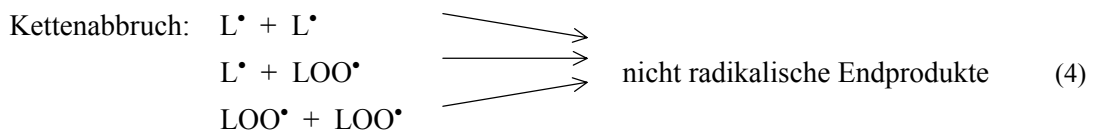
die Reaktion mit Radikalen erleichtert [56, 68]. Durch diese Abspaltung entsteht ein Kohlenstoff-zentriertes Radikal, das Lipidalkylradikal, wie in der Reaktionsgleichung 1 veranschaulicht.



Die Isomerisierungsreaktion (Verschiebung der Radikalfunktion) führt zu einer Umlagerung der Doppelbindung. Dabei wird aus der isolierten eine konjugierte Doppelbindung. [56] Das Lipidalkylradikal reagiert sehr schnell mit Sauerstoff zu einem Lipidperoxyradikal (vgl. Reaktionsgleichung 2). Diese können mit benachbarten ungesättigten Fettsäuren weiter reagieren und erneut ein Wasserstoffatom abstrahieren. Dabei entsteht ein Lipidhydroperoxid und ein neues Lipidalkylradikal (vgl. Reaktionsgleichung 3). [56, 70]



Lipidhydroperoxide sind semistabil und neigen dazu neue radikalische Sekundärprodukte zu bilden, zu denen u.a. Alkane (Pentan, Ethan) und Aldehyde (Malondialdehyd) zählen [46]. Durch die Bildung eines neuen Lipidalkylradikals wird eine Kettenreaktion ausgelöst (Autoxidation). Folglich kann ein initiiertes Radikal eine Vielzahl von Oxidationsreaktionen verursachen [59]. Die Kettenreaktion kommt durch die Reaktion von zwei radikalischen Zwischenprodukten unter Bildung nichtradikalischer Verbindungen zum Erliegen (vgl. Reaktionsgleichung 4) [68, 70].



Initiiertes Potential für die Lipidperoxidation konnte für die radikalischen ROS Perhydroxylradikale (HOO^\bullet) und Hydroxylradikale (HO^\bullet) nachgewiesen werden (sog. konventionelle autokatalytische Peroxidation) [89, 90]. Perhydroxylradikale reagieren ebenso mit bereits vorhandenen Lipidhydroperoxiden (LOOH) zu Lipidperoxyradikalen (LOO^\bullet), was die Kettenfortpflanzung fördert (sog. Hydroperoxid-abhängige Peroxidation). Die Umwandlung des kurzlebigen Perhydroxylradikals in das langlebigere Lipidperoxyradikal findet nach Ansicht von Aikens & Dix [90] favorisiert statt und ist der eigentliche Propagator der Lipidperoxidation. Die nachfolgende Abbildung 4.3 veranschaulicht die Reaktionswege der Lipidperoxidation und der dabei entstehenden Reaktionsprodukte.

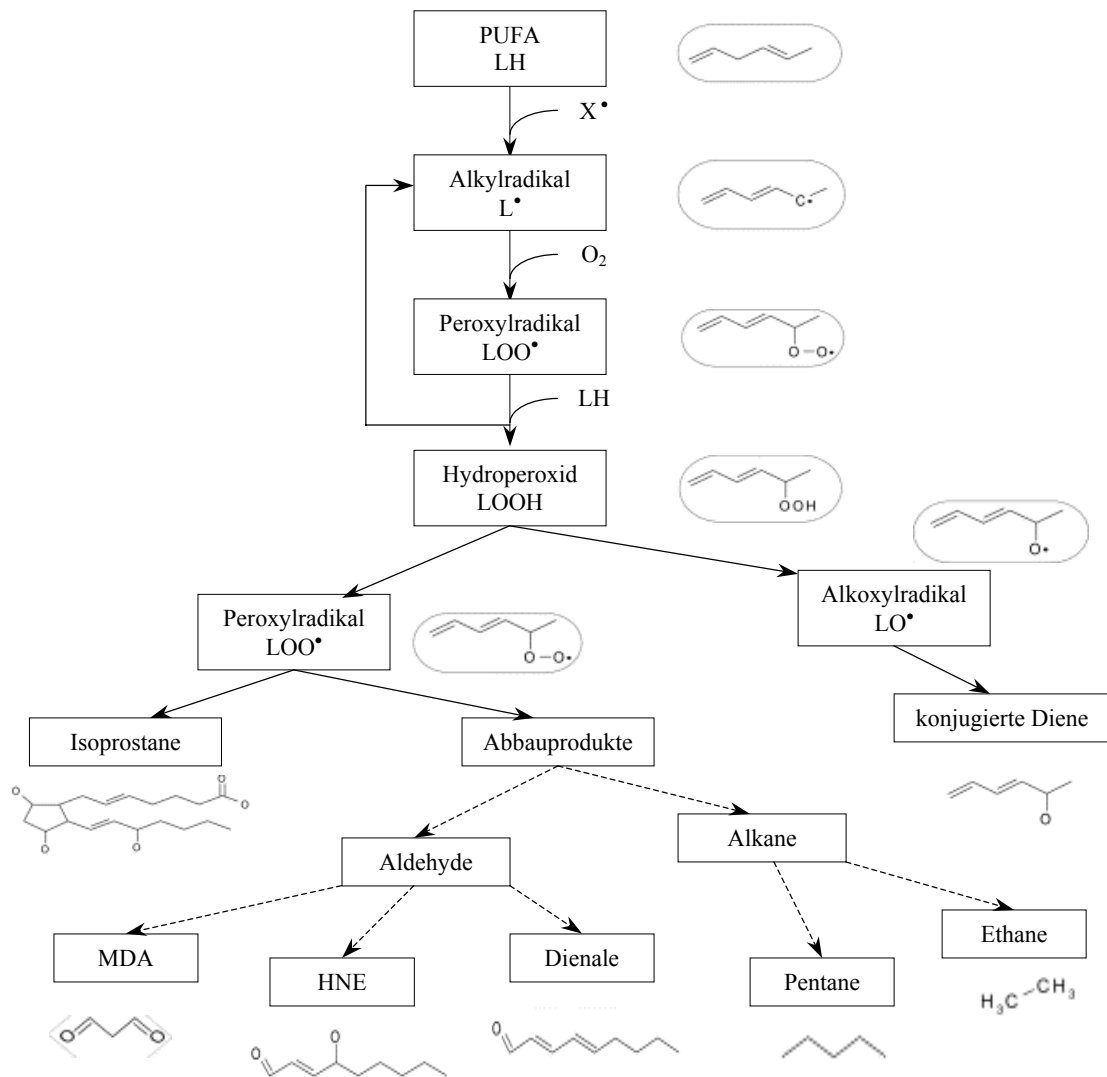


Abb. 4.3: Reaktionswege und -produkte der Lipidperoxidation [61]

Abkürzungen: PUFA - mehrfach ungesättigte Fettsäuren, X^\bullet - freies Radikal, MDA - Malondialdehyd, HNE - Hydroxynonenal,

(2) nicht-radikalische ROS-induzierte Lipidperoxidation

Die Lipidoxidation kann ebenfalls durch nicht radikalische ROS ausgelöst werden. Anstelle der Wasserstoffabspaltung aus dem Lipid, reagiert beispielsweise Singulett-Sauerstoff mit der Doppelbindung des Lipids und bildet Lipidhydroperoxid. Dabei kommt es zu einer Verschiebung der Doppelbindung im Molekül, so dass zwei Arten von Lipidhydroperoxiden entstehen können. Im Gegensatz zu den freien Radikalen, die vorwiegend PUFA oxidieren, reagiert Singulett-Sauerstoff auch mit MUFA. Die Oxidation durch Singulett-Sauerstoff ist stöchiometrisch und nur ein Molekül Singulett-Sauerstoff reagiert mit einem Lipidmolekül, was keine Kettenreaktion hervorruft. [59] Als Initiatoren der Lipidperoxidation wurden auch die nicht radikalischen ROS Ozon [88], Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und hypochlorige Säure ($HOCl$) [73] in der Literatur beschrieben.

(3) enzymatische Lipidperoxidation

Neben den reaktiven Sauerstoffspezies können auch prooxidative Enzyme Lipide oxidativ modifizieren. Hier sind vor allem die Lipoxygenase und die Cyclooxygenase zu nennen, die eine wichtige Rolle im Stoffwechsel der Eikosanoide spielen und an der Bildung von Leukotrienen, Prostaglandinen und Thromboxanen beteiligt sind. Die Lipoxygenase, eine Fe²⁺-haltige nicht-Häm Dioxygenase, katalysiert die stereospezifische Einbindung von molekularem Sauerstoff in PUFA's zu Lipidhydroperoxiden [91]. Aus der Arachidonsäure bildet sich so die Hydroperoxy-eikosatetraensäure. Durch Umlagerung der Doppelbindungen entsteht eine Verbindung mit drei konjugierten Doppelbindungen, das Leukotrien-A₄, was die Ausgangssubstanz für die Leukotriene-B₄, -C₄, -D₄, und -E₄ darstellt. Die Cyclooxygenase katalysiert in zwei Schritten die Bildung des Prostaglandin-H₂. Im ersten Schritt, der eigentlichen Cyclooxygenase-Reaktion, wird Arachidonsäure unter Sauerstoffverbrauch in das Prostaglandin-G₂ überführt. In der anschließenden Peroxidase-Reaktion wird die Hydroperoxygruppe des Prostaglandin-G₂ zu einer Hydroxygruppe zum Prostaglandin-H₂ reduziert, was die Ausgangssubstanz für die Prostaglandinsynthese der Serie 2, den Prostaglandin-D₂, -E₂, -F₂ und Thromboxan-A₂ bildet. [76, 92] Ausgehend von der Eikosatriensäure entstehen Prostaglandine der Serie 1 und basierend auf der Eikosapentaensäure bilden sich Prostaglandine der Serie 3 [76].

4.2.2.2 Ausgewählte Biomarker der Lipidperoxidation

Die Lipidperoxidation resultiert in einer Vielzahl von Oxidationsprodukten, anhand derer die Intensität oxidativer Modifikationen bestimmt werden kann und die somit als Biomarker Aussagen über das Maß an oxidativen Stress im Organismus zulassen. Zu den Biomarkern der Lipidperoxidation zählen u.a. die Oxidationsprodukte F₂-Isoprostane (F₂-Isop), Hydroxyfettsäuren (OHFA), Fettsäureradikale mit konjugierter Dien-Struktur (CD), oxidierte LDL-Partikel (oxLDL) sowie deren Antikörper (OLAB).

Oxidiertes LDL

Oxidative Modifikationen des LDL resultieren aus der Reaktion mit ROS [30] und prooxidativen Enzymen [25]. Bei der Oxidations-Hypothese wird davon ausgegangen, dass oxLDL eine Schlüsselrolle in der Pathogenese der Arteriosklerose spielt [21, 31]. Der Prozess der oxidativen Modifikation beginnt meist bei den PUFA der Oberflächen-Phospholipide. Ebenso reagieren die Fettsäuren in Cholesterylestern und Triglyzeriden mit freien Radikalen. Die Oxidationsreaktionen können sich bis ins Innere des LDL-Partikels fortsetzen und betreffen alle im LDL vorhandenen Strukturen. [93] Studien konnten belegen, dass oxidative Veränderungen im LDL *in vivo* stattfinden [94, 95] und oxLDL in humanen arteriosklerotischen Läsionen vorhanden sind [48, 96, 97]. Bei Personen mit kardiovaskulären Herzerkrankungen konnte im Vergleich zu Gesunden nicht nur eine signifikant höhere oxLDL-Konzentration im Plasma beobachtet [46, 67], sondern auch eine positive Korrelation zum Schweregrad der Erkrankung nachgewiesen werden [98].

Oxidierter LDL-Antikörper

In humanen arteriosklerotischen Läsionen [94, 99] als auch in humanem Plasma [95, 100] wurden ebenfalls Antikörper nachgewiesen, die spezifische aus oxidativen Modifikationen resultierende Epitope des oxLDL erkennen und binden können [94]. Abhängig von den entsprechenden Epitopen werden die Antikörper-Titer von Immunglobulin G und M untersucht. Es wurde die Hypothese formuliert, dass die physiologische Rolle der oxLDL-Antikörper (OLAB) darin besteht, modifizierte LDL aus der Blutzirkulation und möglicherweise auch aus der Arterienwand zu entfernen. [99] Ein erhöhter OLAB-Spiegel konnte mit der Progredienz der Arteriosklerose assoziiert werden [72, 101]. Bei Patienten mit Myokardinfarkt wurde eine vermehrte Immunglobulin G-Konzentration eruiert [102-104]. Ebenso wiesen Personen mit Dyslipidämie im Vergleich zu gesunden Probanden einen höheren Immunglobulin M-Titer auf [94].

Konjugierte Diene

Die ROS-initiierte Wasserstoffabspaltung bei der PUFA-Peroxidation geht einher mit der Strukturumwandlung von isolierten in konjugierte Doppelbindungen [56, 105]. Die Neuordnung der Doppelbindungen der PUFA ist demnach eine frühzeitige Reaktion in der Lipidperoxidation [49, 106]. Diese CD-Struktur ist für PUFA ungewöhnlich, weshalb deren Präsenz auf Autoxidationsreaktionen zurückgeführt wird [105]. Die CD weisen ein spezifisches UV-Absorptionsspektrum bei 234 nm auf, was die Grundlage der Nachweismethode darstellt [107, 108]. Die Konzentration der Fettsäuren mit CD-Struktur im LDL ist ein Indikator für den Oxidationsgrad der LDL-Partikel [106]. So konnte ein oxidationsinduzierter Anstieg der CD-Konzentration im LDL dokumentiert werden [48].

F₂-Isoprostane

Isoprostane sind Prostaglandin-ähnliche Verbindungen, die bei der nicht-enzymatischen freien Radikal-induzierten Peroxidation der Arachidonsäure entstehen [109, 110]. Diese können wie bei der Prostaglandinsynthese einen F-, D-, E- oder Thromboxan-Ring aufweisen [111]. Vorrangig wird die Konzentration der F₂-Isop bestimmt, da es die chemisch stabilste Verbindung darstellt [108, 111]. In humanen arteriosklerotischen Läsionen finden sich im Vergleich zu gesundem Gefäßgewebe eine deutlich höhere F₂-Isop-Konzentration [112]. Außerdem wurden erhöhte F₂-Isop-Spiegel im Zusammenhang mit den CVD-Risikofaktoren Rauchen [113, 114], Hypercholesterinämie [115, 116], Diabetes [117], Hyperhomozysteinämie [118] und Adipositas [119] beobachtet.

Hydroxyfettsäuren

Neben der direkten Bestimmung von Lipidhydroperoxiden kann auch anhand der OHFA der Oxidationsgrad der Lipide ermittelt werden [120, 121]. OHFA sind spezifische Oxidationsprodukte von MUFA und PUFA [122]. Sie resultieren aus Lipidhydroperoxiden zum einen auf enzymatischem Wege z.B. durch die Glutathion-Peroxidase [123] und zum anderen auf nicht-enzymatischem radikalischem Wege durch homolytische Spaltung katalysiert durch

beispielsweise Metalloproteinen, Metallionen oder ihren Komplexen [124]. Die Peroxidation ist dabei nicht auf freie Substrate limitiert, sondern kann auch bei veresterten Fettsäuren stattfinden. Die Hydroxygruppe kann bei den C₁₈-Fettsäuren Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure an verschiedenen Stellen im Molekül eingefügt werden, so dass 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 15- und 16-OHFA entstehen können [122]. OHFA scheinen eine wichtige Rolle in der Arteriosklerose zu spielen und wurden bereits mehrfach in arteriosklerotischen Plaques nachgewiesen [125-128]. Außerdem konnte Adipositas einem der KHK-Haupttrisikofaktoren mit einer erhöhten Konzentration von 9- und 13-Hydroxy-Linolsäure assoziiert werden [129]. Jira *et al.* [130] beobachtete weiterhin eine höhere 9-Hydroxy-Linolsäure-Konzentrationen in den LDL-Partikeln von Arteriosklerose-Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. Des Weiteren wurde für die Linolsäure und ihre Hydroxy- und Hydroperoxy-Derivate eine stimulierende Wirkung auf die Expression von Adhäsionsmolekülen nachgewiesen [131].

Die Produkte der Lipidperoxidation haben zytotoxische und genotoxische Eigenschaften [132]. Der menschliche Organismus besitzt im Gegenzug verschiedene antioxidative Schutzmechanismen, die der Bildung solcher Substanzen entgegenwirken. Diese werden im nachfolgenden Kapitel thematisiert.

4.2.3 Antioxidative Schutzmechanismen

Antioxidantien umfassen eine Vielzahl von Verbindungen, die von Halliwell & Whiteman [62] als Substanzen definiert werden, die in geringen Konzentrationen, im Vergleich zu den oxidierbaren Substraten, die Oxidation dieser verzögern oder verhindern. Dabei können die Antioxidantien wie folgt klassifiziert werden [54, 60]:

- endogen (vom Organismus gebildet) oder exogen (über die Nahrung aufgenommen)
- enzymatisch (z.B. nicht-spezifische Peroxidase, Katalase, Glutathion-S-Transferase, Superoxid-Dismutase, Glutathion-Reduktase, Glutathion-Peroxidase) oder nicht-enzymatisch (z.B. Vitamin C, Glutathion, Vitamin E, β -Carotin)
- Wirkungsprinzip der Prävention (Glutathion-Peroxidase, Katalase, Superoxid-Dismutase, Vitamin E, Carotinoide, Transferrin, Ceruplasmin), Inhibierung (Vitamin C, Harnsäure, Bilirubin, Albumin, Vitamin E, Flavonoide, Carotinoide) oder Reparatur (Lipasen, Proteasen, Transferasen und DNS-Reparaturenzyme)

Die Balance zwischen den Antioxidantien und den ROS bestimmt den Umfang der oxidativen Schädigung in der Arterienwand und den Grad der LDL-Oxidation. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass sich die Lag-Phase bei der LDL-Oxidation direkt proportional zur Konzentration der Antioxidantien im LDL verhält. [46] Nachfolgend werden die für die Arbeit relevanten endogenen Antioxidantien aufgeführt und ihre Rolle im oxidativen Geschehen erläutert. Einen Überblick über das Zusammenspiel antioxidativer Schutzmechanismen bei der Inaktivierung von ROS gibt die Abbildung 4.4.

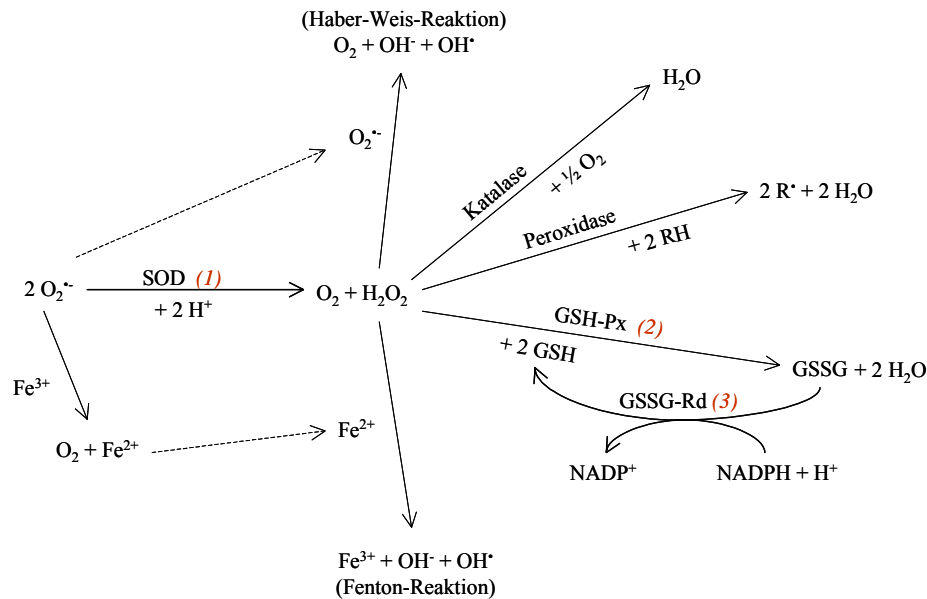


Abb. 4.4: Enzymatische Inaktivierung von aktivem Sauerstoff [modifiziert nach 55, 67]

Die Aktivität der Superoxid-Dismutase bildet die erste Stufe in der Prävention vor reaktiven Sauerstoffspezies. Diese katalysiert die Dismutation von Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff. Aus dem Wasserstoffperoxid entsteht in der metall-katalysierten Fenton- und Haber-Weiss-Reaktion das reaktionsfreudigere Hydroxylradikal. Durch Aktivität der Katalase und Peroxidasen, vor allem der Glutathion-Peroxidase, wird dieser Reaktion vorgebeugt und unter Bildung von Wasser die Wasserstoffperoxide detoxifiziert. Die Glutathion-Peroxidase ist dabei auf Glutathion als Cosubstrat angewiesen. Das dabei entstehende oxidierte Glutathion wird durch die Glutathion-Reduktase wieder regeneriert. Abkürzungen: $O_2^{\bullet -}$ - Superoxidanion, H_2O_2 - Wasserstoffperoxid, HO^\bullet - Hydroxylradikal, R^\bullet - Radikal, SOD - Superoxid-Dismutase, GSH - reduziertes Glutathion, GSSG - oxidiertes Glutathion, GSH-Px - Glutathion-Peroxidase, GSSG-Rd - Glutathion-Reduktase

Superoxid-Dismutase

Die Superoxid-Dismutase (SOD) gehört zur Familie der Metalloenzyme [53] und nutzt die Redox-Eigenschaft von Übergangsmetallen als Mechanismus für ihre katalytische Eigenschaft [69]. Humanrelevant sind vor allem die kupfer- und zinkhaltige SOD (Cu/ZnSOD) im Zytosol, Plastid und Peroxisom und die manganhaltige SOD (MnSOD) in den Mitochondrien und Peroxisom [54]. Die SOD kommt ubiquitär in allen Geweben vor und in besonders hoher Konzentration in den stoffwechselaktiven Organen wie Lunge, Herz, Leber und Niere [68]. Sie katalysiert die Dismutation von Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff (vgl. Abb. 4.4, Reaktion 1) und bildet somit den ersten präventiven Schritt gegen oxidativen Stress [133, 134]. Eine niedrige SOD-Konzentration wurde bei Personen nachgewiesen, die an mit oxidativem Stress assoziierten Erkrankungen wie Diabetes mellitus [135], Neoplasie [136], glomeruläre Erkrankungen [137], alterungsbedingte Hirnleistungsstörungen [138] und Erkrankung der Koronarien [139] litten sowie bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung mit vorhergehendem Myokardinfarkt [140]. Ebenso konnte bei Frauen nach körperlicher Aktivität mit geringer Intensität ein niedriger SOD-Spiegel beobachtet werden [141].

Glutathion-Peroxidase

Bei der Glutathion-Peroxidase (GSH-Px) handelt es sich ebenfalls um ein Metalloenzym, in dessen aktivem Zentrum sich Selen in Form eines Selenocysteinrestes befindet [142, 143]. Das Enzym ist

im Plasma, Cytosol und membranständig lokalisiert, wobei Letztere als Phospholipid-Hydroperoxid-GSH-Px bezeichnet wird [73, 144]. Die GSH-Px katalysiert die Reduktion von Wasserstoffperoxiden zu Wasser unter gleichzeitiger Oxidation von reduziertem Glutathion (GSH) zu Glutathiondisulfid (oxidiertes Glutathion, GSSG) (vgl. Abb. 4.4, Reaktion 2) [134, 145]. Ebenfalls unter Verwendung des Substrates GSH katalysiert es die Reduktion einer Vielzahl an organischen und anorganischen Hydroperoxiden zu den entsprechenden Hydroxyprodukten [55, 146]. Eine besondere Bedeutung liegt dabei in der Eliminierung von Lipidhydroperoxiden, die durch Protonierung der Lipidperoxyradikale entstehen [76], was folglich bei der Prävention der Lipidperoxidation von Bedeutung ist [73]. Weiterhin wirkt die GSH-Px inhibierend auf die Enzyme Cyclooxygenase, 5- und 15-Lipoxygenase, die bei der enzymatischen Lipidperoxidation eine Rolle spielen [147]. Blankenberg und Kollegen [148] beschreiben die GSH-Px als einen starken Prediktor für CVD. Bei Patienten mit Erkrankung der Koronarien [149, 150] und nach einem Myokardinfarkt [151] konnte eine signifikant niedrigere GSH-Px-Aktivität im Vergleich zu gesunden Probanden nachgewiesen werden.

Glutathion-Reduktase

Die Glutathion-Reduktase (GSSG-Rd), lokalisiert im Zytosol, Mitochondrium und Plastid [54], dient der Aufrechterhaltung des intrazellulären GSH/GSSG-Quotienten [68]. Sie katalysiert die Reduktion von GSH zu GSSG bei zeitgleicher Oxidation von $\text{NADPH} + \text{H}^+$ zu NADP^+ (vgl. Abb. 4.4, Reaktion 3). Für die Aufrechterhaltung dieser Reaktion ist ein $\text{NADPH} + \text{H}^+$ -regenerierendes System (z.B. Glukose-6-Phosphat-Dehydrogenase) notwendig. [76]. Die Wiederherstellung von GSH ist elementar im Metabolismus GSH-abhängiger Schutzmechanismen [146]. Ebenso wie die GSH-Px zeigt die GSSG-Rd eine signifikant niedrigere Aktivität bei Probanden mit Erkrankung der Koronarien [150] nach Myokardinfarkt [151].

Glutathion

Glutathion (GSH) ist der wichtigste nicht-enzymatische Regulator des intrazellulären Redox-Status [146]. Das Tripeptid GSH wird aus den Aminosäuren Glutamat, Cystein und Glycin synthetisiert. Diese Synthese findet in allen humanen Zellen statt, aber vorwiegend in der Leber. [152] Zu 85 - 90 % befindet sich GSH im Zytosol, der restliche Anteil in den Organellen wie Mitochondrien, Peroxisom und Zellkern [153]. Das Gesamt-GSH (Summe aus GSH und GSSG) ist zellulär bis zu 15 % an Proteine gebunden [152]. Die Thiolgruppe des Cysteinrestes ist entscheidend für die Funktionalität des GSH. So kann es indirekt als Cosubstrat durch kovalente Bindung an Enzyme (z.B. GSH-Px) Hydroperoxide, Wasserstoffperoxide und elektrophile Verbindungen unter Bildung von GSSG detoxifizieren (vgl. Abb. 4.4, Reaktion 2) [146, 154]. Ebenso ist eine nicht-enzymatische direkte Reaktion mit organischen freien Radikalen möglich, wobei die Thiolgruppe ein H-Atom abgibt und ein Thioldradikal entsteht [152]. Diese Reaktion ist Grundlage der Regenerierung des Tocopherylradikals zum Tocopherol [76]. Außerdem können die Thioldradikale selbst miteinander reagieren, woraus GSSG resultiert, und mit anderen Zellbestandteilen und somit prooxidativ wirken. Unter physiologischen Bedingungen überwiegt

jedoch die Eigenschaft des Radikalfängers. [68] Weiterhin wird GSH mittels der GSH-S-Transferase, einem Phase-II-Enzym, an Xenobiotika konjugiert und somit deren hydrophile Eigenschaft erhöht [134]. Die zelluläre Konzentration von GSH wird deutlich durch Protein-Malnutrition, oxidativen Stress und einer Vielzahl pathologischer Geschehen reduziert [153, 155].

Paraoxonase

Die Paraoxonase-1 (PON-1, Arylesterase) ist ein Kalzium-abhängiges Glukoprotein [156], was im HDL, VLDL, Chylomikronen und im Lipoprotein defizienten Serum nachweisbar ist. Zusätzlich wird in PON-2 und -3 unterschieden, die zellulär lokalisiert sind [157]. Die Synthese von PON-1 erfolgt überwiegend in der Leber, während PON-3 in Leber und Niere und PON-2 fast in jedem Gewebe, vor allem in Makrophagen sowie arteriellen Endothelzellen und Zellen der glatten Muskulatur, exprimiert werden [158]. Es trägt zur Detoxifizierung von Organophosphorverbindungen (z.B. Paraoxon - namensgebend) und lipophilen Radikalen aus der Lipidperoxidation bei [159]. PON-1 weist neben den antioxidativen auch antiatherogene Eigenschaften durch Verzögerung der Schaumzellbildung auf. So konnten Studien am Tiermodell zeigen, dass PON-1 den Cholesterin-Influx in Makrophagen durch Inhibierung der Aufnahme von oxidiertem LDL und durch Inhibierung der LDL-Oxidation an sich reduziert. [160] Außerdem hemmt PON-1 die Biosynthese von Cholesterin in den Makrophagen [161] und stimuliert den Cholesterin-Efflux aus den Makrophagen [162]. PON inhibiert oxidativen Stress und wirkt somit präventiv vor kardiovaskulären Erkrankungen [157]. In Patienten mit oxidativen Stress assoziierten Erkrankungen konnte eine deutlich geringere PON-Aktivität nachgewiesen werden als in gesunden Kontrollen [163-166]. Es wird angenommen, dass PON die Komponente im HDL sein könnte, die für die protektive Wirkung des HDL verantwortlich ist [167].

4.3 Mediterrane Ernährung

Die beschriebenen biochemischen Mechanismen der CVD-Genese können durch die habituelle Ernährung beeinflusst werden. Diesbezüglich wurde vor allem der mediterranen Ernährungsweise basierend auf den Ergebnissen der Sieben-Länder-Studie Aufmerksamkeit geschenkt. In dieser Kohortenstudie wurden Ende der 50er Jahre 12.763 Männer zwischen 40 und 59 Jahren aus Griechenland, Italien, dem ehemaligen Jugoslawien, Japan, Finnland, Niederlande und USA rekrutiert. Diese Studie, fokussierend auf der Bedeutung der Ernährung bei CVD, zeigte eine niedrigere Mortalitätsrate in den mediterranen Ländern als in den anderen teilnehmenden Ländern. Innerhalb der mediterranen Region wies Kreta die geringste Mortalitätsrate auf [168, 169]. Auch die Daten der Weltgesundheitsorganisation belegen, dass die Menschen in den mediterranen Ländern die höchste Lebenserwartung und gleichzeitig die niedrigste Inzidenz von CVD, verschiedenen Krebserkrankungen und anderen ernährungsbedingten Erkrankungen in der Welt aufwiesen [4]. Beispielsweise war die Mortalitätsrate an CVD eines erwachsenen Griechen im Jahr 1960 um 90 % geringer als die eines Amerikaners [8, 168]. Diese unterschiedliche Lebenserwartung konnte nicht ausschließlich anhand der verschiedenen Lebensgewohnheiten oder

genetischen Einflussfaktoren erklärt werden. Folglich rückte die Ernährungsweise in den Mittelpunkt des Interesses.

Einen ersten Hinweis auf die präventive Wirkung der mediterranen Ernährung anhand einer klinischen Studie brachte die Lyon-Diet-Heart-Studie. In dieser randomisierten, verblindeten Studie zur Sekundärprävention ernährten sich 605 Männer nach vorliegendem Myokardinfarkt entweder nach mediterraner oder westlicher Ernährungsweise. Bereits nach 27 Monaten, noch deutlicher nach 5 Jahren, verminderte sich das Risiko, einen erneuten Myokardinfarkt zu erleiden, um 50 - 70 % in der Gruppe der Patienten mit mediterraner Ernährungsweise. [5, 170] Die Fall-Kontroll-Studie CARDIO 2000 an 661 Patienten mittleren Alters mit ersten Anzeichen eines Myokardinfarktes oder instabiler Angina pectoris und 661 geschlechts- und altersgematchten Kontrollen in Griechenland zeigte ebenfalls, dass die Adoption einer mediterranen Ernährungsweise das Risiko, ein akutes Koronarsyndrom zu entwickeln, um 16 % reduziert [6]. Weitere Auswertungen an verschiedenen Subpopulationen dieser Kohorte ermittelten bei Beibehaltung des mediterranen Ernährungsstils ein um 7 - 10 % verringertes Risiko eines akuten Koronarsyndroms bei bereits vorliegender Hypertonie [171], ein um 12 % vermindertes Risiko bei vorhandener Hypercholesterinämie [172], und ein um 35 % reduziertes Risiko bei Patienten mit metabolischem Syndrom [173].

4.3.1 Charakteristika der traditionellen mediterranen Ernährung

Der Begriff „mediterrane Ernährung“ beschreibt das Ernährungsverhalten in den Oliven anbauenden Gebieten der mediterranen Länder Ende der 50er und Anfang der 60er Jahre [174, 175]. Willett *et. al.* [8] konkretisiert diese Definition und bezieht sich ausschließlich auf das Ernährungsverhalten der Menschen auf Kreta, im restlichen Griechenland und in Süditalien zu dieser Zeit.

Die mediterrane Region umfasst 18 an das Mittelmeer angrenzende Länder, die religiöse, kulturelle und wirtschaftliche Unterschiede aufweisen. Folglich existieren zwischen den Ländern auch unterschiedliche Varianten der mediterranen Ernährung. [7, 176] Aber dennoch lassen sich die im Folgenden aufgeführten charakteristischen Gemeinsamkeiten zusammenfassen. So kennzeichnete sich die traditionelle mediterrane Ernährung durch einen überwiegenden Verzehr von pflanzlichen Lebensmitteln. Dazu zählten vor allem Obst, Gemüse, Brot und andere Getreideprodukte, Kartoffeln, Hülsenfrüchte, Nüsse und Samen. Olivenöl war der Hauptfettlieferant, da zu dieser Zeit Butter selten und Margarine weitestgehend unbekannt waren. Milch und Milchprodukte wurden täglich in geringen Mengen verzehrt. Aufgrund der mangelnden Kühlmöglichkeiten stand der Konsum von Joghurt und Käse im Vordergrund. Ebenfalls in moderaten Mengen wurde Fisch und Geflügel gegessen. Der Verzehr von rotem Fleisch, wie Lamm-, Schwein- oder Rindfleisch, war dagegen gering. Auch wurden nicht mehr als vier Eier pro Woche konsumiert. Alkohol wurde in moderaten Mengen (Männer: 1-2 Gläser Wein pro Tag; Frauen: 1 Glas Wein pro Tag) vorwiegend zu den Mahlzeiten getrunken. Außerdem kennzeichnet sich die mediterrane Küche durch eine reichliche Verwendung von Gewürzen und Kräutern. Es wurden vorwiegend geringfügig verarbeitete, frische, saisonale und örtlich produzierte Lebensmittel verzehrt. [8, 177-180]

Die Italiener verzehrten verglichen mit den anderen europäischen mediterranen Ländern große Mengen an Pasta. Die Spanier sowie die Portugiesen konsumierten überwiegend Fisch und die griechische Diät zeichnete sich durch einen hohen Konsum von Vollkornbrot, gekochten Lebensmitteln mit einem hohen Anteil an Hülsenfrüchten und Gemüse sowie Salaten reich an Olivenöl aus. [8, 179, 181] Die in Abbildung 4.5 dargestellte Ernährungspyramide gibt die relativen Verzehrshäufigkeiten der einzelnen Lebensmittelgruppen der traditionellen mediterranen Ernährung wieder.

Die Aufnahme von Fett schwankte zwischen 28 Energie-% (z.B. in Italien) und 40 Energie-% (z.B. in Griechenland und Kreta). Der Anteil von gesättigten Fettsäuren (SFA) betrug ≤ 8 Energie-% und mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) < 7 Energie-%. Durch die

hohe Aufnahme von 16 - 29 Energie-% an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA), zu 60 - 80 % über Olivenöl, ergab sich ein günstiges Verhältnis von MUFA zu SFA von 2 - 4 zu 1. [8, 180, 182] Aufgrund des hohen Konsum an pflanzlichen Lebensmitteln, Olivenöl und dem geringen Verarbeitungsgrad der Lebensmittel wurde eine hohe Zufuhr von Vitaminen (besonders β -Carotin, α -Tocopherol), Mineralstoffen (Kalzium, Magnesium, Kalium), komplexen Kohlenhydraten, Ballaststoffen und phenolischen sekundären Pflanzenstoffen gewährleistet [177, 180].

Neben den ernährungsrelevanten Faktoren waren auch bestimmte Lebensstilfaktoren für die mediterrane Bevölkerung zu dieser Zeit charakteristisch. Durch die Arbeit auf dem Feld und im Haushalt wies die Bevölkerung eine regelmäßige hohe körperliche Aktivität auf. Außerdem schenkten sie familiären und anderen sozialen Kontakten große Bedeutung, was sich u.a. in verlängerten Essenszeiten und gemeinsamer Essenszubereitung äußerte. Ebenfalls fanden Siestas vor allem nach den Mahlzeiten statt. Das Verhalten war zu dieser Zeit geprägt durch eine relativ stressfreie und gleichförmige Lebensweise im Einklang mit der Umwelt. [8, 183]

4.3.2 Die mediterrane Ernährung heute

Im Verlauf der letzten 30 bis 40 Jahre hat sich die Ernährungsweise in den mediterranen Ländern unvorteilhaft verändert. Ein Trend weg von der traditionellen mediterranen Diät und hin zur westlichen Ernährungsweise ist zu beobachten. Gründe für die Veränderung sind in der zunehmenden Industrialisierung, Urbanisierung, technologischen und ökologischen Weiterentwicklung, Tourismus, Berufstätigkeit der Frauen und der Veränderung der

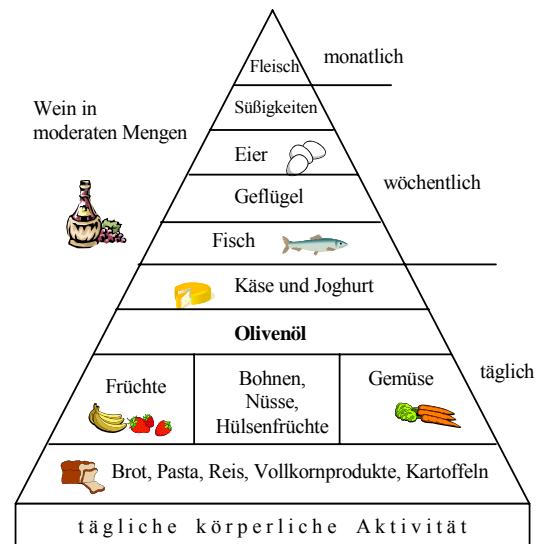


Abb. 4.5: Ernährungspyramide der traditionellen mediterranen Diät [nach 8]

Die mediterrane Ernährungsweise zeichnet sich durch den hohen Konsum an pflanzlichen Lebensmitteln aus. Olivenöl ist der Hauptfettlieferant. Außerdem wird in moderaten Mengen Fisch, Geflügel und Wein sowie in geringen Mengen rotes Fleisch zu sich genommen.

Familienstruktur zu finden. Daraus resultiert ein verändertes Lebensmittelangebot, Verknappung der Zeit für die Speisenzubereitung und verstärkte Nutzung von Convenienceprodukten und Fast Food. [174, 180, 183]

Daten aus der DAFNE Datenbank der Food and Agriculture Organisation, der Sieben-Länder-Studie und der European Prospective Investigation into Nutrition and Cancer (EPIC-Studie) belegen diesen Wandel [184-189]. So nimmt der Verzehr von tierischen Lebensmitteln zu Lasten der pflanzlichen Produkte zu. Kartoffeln, Hülsenfrüchte, Brot und andere Getreideprodukte werden weniger gegessen, während sich der Verzehr von rotem Fleisch fast verdoppelt hat. Ein leichter Anstieg des Verzehrs von Milchprodukten ist ebenfalls zu verzeichnen. Olivenöl ist zwar immer noch der Hauptfettlieferant, aber der Anteil an Butter, Margarine und anderen kostengünstigeren pflanzlichen Ölen, wie Sonnenblumenöl, ist gestiegen. Folglich hat sich auch das Verhältnis von MUFA zu SFA verschlechtert. Der Obst- und Gemüsekonsum ist konstant geblieben, teilweise sogar gestiegen. Zusätzlich konnte ein Rückgang der körperlichen Aktivität festgestellt werden. [180, 184, 190] In den ländlichen Regionen Spaniens und Griechenlands konnte die traditionelle Ernährungsweise eher beibehalten werden als in den städtischen Gebieten [190]. Erste Resultate dieser Entwicklung spiegeln sich bereits im signifikanten Anstieg der KHK-Mortalitätsrate und der Erhöhung entsprechender Risikofaktoren, wie Cholesterinsspiegel, Blutdruck und Übergewicht, auf Kreta wider [184].

4.4 Olivenöl

Die Geschichte der Olivenölproduktion kann bis ins 5. Jh. v. Chr. zurückverfolgt werden [191]. Es wird aus dem ölreichen Fruchtfleisch der Oliven (*lat. Olivia*), den Früchten des Olivenbaumes, gewonnen [19, 192]. Es ist somit das einzige Speiseöl, was aus der Frucht und nicht aus dem Samen extrahiert wird [193]. Die historische Heimat des Olivenbaumes ist der Mittelmeerraum, der auch heute noch aufgrund des vorherrschenden gemäßigten Klimas den über 150 verschiedenen Olivenbaumarten ideale Lebensbedingungen bietet. Der Olivenbaum (*lat. Olea europaea*) gehört zur Familie der Ölbaumgewächse (*lat. Oleaceae*) und wird mittlerweile auch in Kalifornien, Südafrika, Chile, Argentinien, Australien, Neuseeland, Japan und China kultiviert. [192]

4.4.1 Ernte und Olivenölgewinnung

Der Erntezeitpunkt ist von dem Reifegrad der Oliven abhängig und findet zwischen November und Februar statt [191]. Kurz vor der Vollreife der Früchte erreicht der Ölgehalt im Mesokarp mit bis zu 50 % sein Maximum. Bei Überschreitung der Vollreife erhöht sich die Neigung zum Ranzigwerden des Öles. [194] Die Ernte der Oliven erfolgt entweder per Hand oder maschinell mittels Rüttelmaschinen. Verletzungen der Früchte während der Ernte und des Transports sowie lange Lagerzeiten bis zur Pressung wirken sich negativ auf die Qualität des Öles aus. [192, 195] Außerdem bestimmt der Zustand der Oliven die Temperaturen und Extraktionszeiten bei der Ölgewinnung. Sind die Oliven unversehrt, kann das Öl ohne Verlust der organoleptischen

Eigenschaften bei einer Temperatur unterhalb 30 °C gewonnen werden. Bei beschädigten Oliven wird eine höhere Temperatur benötigt, um die Extraktionsausbeute zu erhöhen. [196]

Die Olivenölgewinnung findet ausschließlich durch mechanische oder sonstige physikalische Verfahren statt. Dabei wird zwischen traditioneller und moderner Pressmethode unterschieden. Das Prinzip beider Methoden ist identisch (Abbildung 4.6). Allerdings gewährleistet die moderne Pressmethode eine kontinuierliche Arbeitsweise. Aus dem ausgepressten Trester wird mit Hilfe von Lösungsmitteln das rohe Oliventresteröl gewonnen. Der Rückstand kann als Brennstoff, Isoliermaterial oder für Fußboden- und Wandbeläge Anwendung finden. [191, 196]

Die Qualität des Olivenöles wird vorwiegend von dem Extraktionssystem (30 %), dem Reifegrad (30 %) und der Olivensorte (20 %) bestimmt. Weitere qualitätsbeeinflussende Faktoren stellen der Konservierungsprozess (10 %) sowie das Ernte- und Transportsystem (jeweils 5 %) dar. [197]

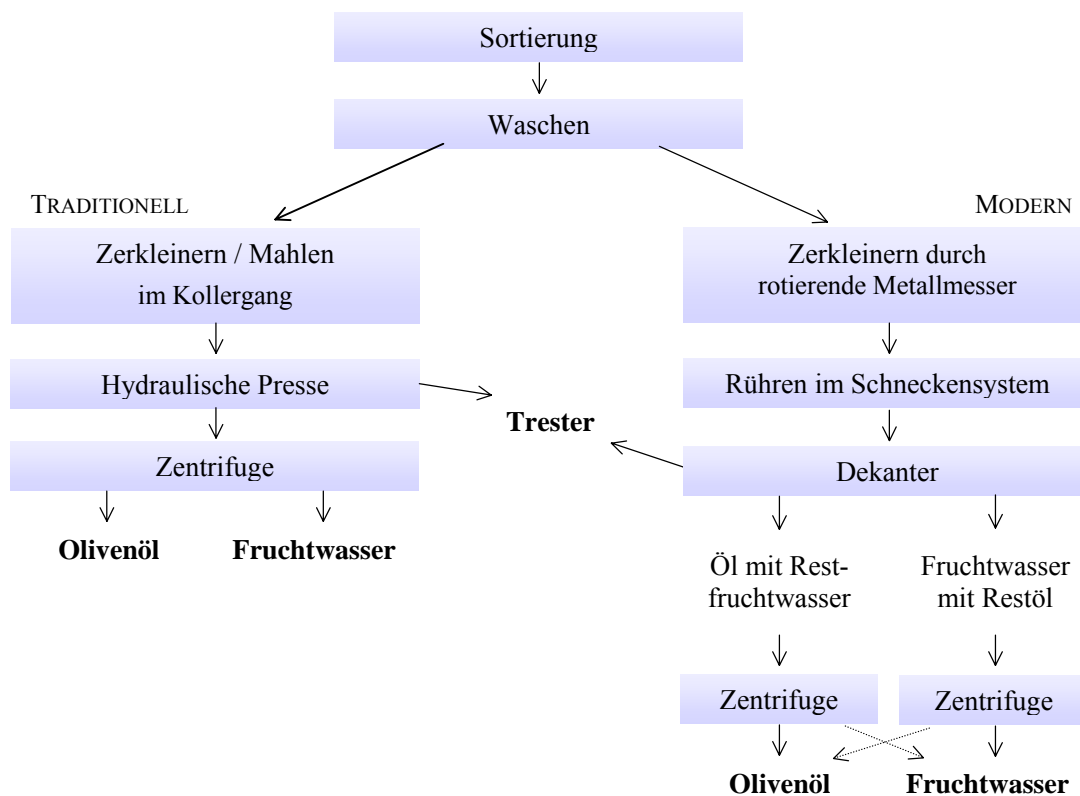


Abb. 4.6: Arbeitsschritte bei der traditionellen und modernen Olivenölgewinnung [modifiziert nach 191, 192, 195]

Die Oliven werden bei beiden Verfahren zunächst von Blättern und kleinen Ästen entfernt und vorsichtig gewaschen. Bei der traditionellen Methode erfolgt das Zerkleinern im sogenannten Kollergang. Der entstehende Olivenbrei wird auf runde Matten aufgetragen, zu einem Turm gestapelt und hydraulisch gepresst. Die moderne Pressmethode kennzeichnet sich durch eine kontinuierliche Arbeitsweise, wodurch Kapazität und Ertrag erhöht, Lagerzeiten verkürzt und eine Verarbeitung zur richtigen Olivenreife gewährleistet wird. Das Zerkleinern erfolgt durch rotierende Metallmesser und wird mittels eines Schneckensystems gerührt. Über Schläuche gelangt der Olivenbrei in den Dekanter in dem die Trennung in Olivenöl, Fruchtwasser und Trester erfolgt. Die nachfolgende Zentrifugation dient der besseren Trennung von Olivenöl und Fruchtwasser.

4.4.2 Verzehr und Produktion

Die europäische Union ist weltweit der größte Erzeuger und auch der größte Verbraucher von Olivenöl [198, 199]. Jedoch beträgt der Anteil von Olivenöl am Weltspeiseölverbrauch nur 3%. Aber aufgrund seines zunehmend positiven Images steigt die Nachfrage seit 1995/96 um jährlich 6% an. [199, 200] Die Weltproduktion von Olivenöl betrug seit 2000/01 im Durchschnitt 2,7 Mio. Tonnen jährlich. Davon wurden ca. 80 % in den Mittelmeerländern Europas produziert. Die restliche Produktion verteilte sich vorwiegend auf andere Mittelmeerländer wie Türkei, Syrien, Tunesien und Marokko. Ebenso sind die Mitgliedstaaten der Europäischen Union die weltweit führenden Olivenölkonsumenten mit einem durchschnittlichen Verbrauch von 1,9 Mio. Tonnen in den Wirtschaftsjahren 2000 - 2003, was im Durchschnitt 71,5 % des Weltverbrauchs darstellt. [199] In Deutschland liegt der Pro-Kopf-Verbrauch bei 0,85 l [195]. Die nachfolgende Tabelle 4.4 verdeutlicht den Olivenölkonsum in der EU.

Tab. 4.4: Olivenölverzehr in der Europäischen Union [modifiziert nach 199]

Jahr	Einheit	Griechenland	Spanien	Italien	Portugal	Frankreich	Andere
1990	kg/Kopf	20,2	10,1	9,5	2,7	0,5	0,1
	g/Tag ¹	56,1	28,1	26,4	7,5	1,4	0,3
2000	kg/Kopf	25,0	12,6	12,3	6,9	1,4	0,5
	g/Tag ¹	69,4	35,0	34,2	19,2	3,9	1,4
jährlicher Anstieg	%	2,2	2,2	2,6	9,7	10,8	16,1

¹ berechnet

4.4.3 Güteklassen

Die Qualität und Vermarktung der Oliven- und Oliventresteröle wird verbindlich durch die Kommission der Europäischen Gemeinschaft geregelt [201]. Die nachfolgende Tabelle 4.5 fasst die seit November 2003 gültigen Güteklassen für Olivenöl zusammen. Die ersten fünf Kategorien beinhalten alle nativen Öle und die daraus durch mechanische und physikalische Verfahren hergestellten Öle. Die Kategorien 6 - 8 stellen Oliventresteröle dar, die durch Lösungsmittel oder zweite Zentrifugation aus dem Trester gewonnen werden. Alle aufgelisteten Olivenölkategorien können laut der Verordnung Nr. 136/66/EWG im Großhandel in den Verkehr gebracht werden. Jedoch nur die Güteklassen 1, 2, 5 und 8 (dick hervorgehoben) gehören zu den Einzelhandelskategorien und sind für den Endverbraucher käuflich. [196, 202, 203]

Tab. 4.5: Güteklassen von Olivenöl und Oliventresteröl [modifiziert nach 196, 202, 203]

Güteklassen	Definition	Ausgewählte chemische Eigenschaften	
		Säuregehalt ¹ (g/100g Öl)	Peroxidzahl ² (mEq O ₂ /kg)
1. Natives Olivenöl extra	- direkt aus Oliven nach ausschließlich mechanischen oder sonstigen physikalischen Verfahren gewonnen - einwandfrei in Geschmack und Geruch	≤ 0,8	≤ 20
2. Natives Olivenöl	- direkt aus Oliven nach ausschließlich mechanischen oder sonstigen physikalischen Verfahren gewonnen	≤ 2,0	≤ 20
3. Lampantöl	- direkt aus Oliven nach ausschließlich mechanischen oder sonstigen physikalischen Verfahren gewonnen - ist ein natives Olivenöl, nicht zum Verzehr geeignet	> 2,0	--
4. Raffiniertes Olivenöl	- durch Raffination von rohen Olivenölen (<i>Kategorie 1-3</i>) gewonnenes Öl	≤ 0,3	≤ 5
5. Olivenöl	- Verschnitt aus raffiniertem und nativem Olivenöl (<i>Kategorie 1 und 2</i>) ohne Vorgabe eines bestimmten Mischungsverhältnisses	≤ 1,0	≤ 15
6. Rohes Oliventresteröl	- durch Behandlung von Oliventrestern gewonnenes Öl - oder: Öl, das mit Ausnahme bestimmter festgelegter Merkmale einem Lampantöl entspricht	--	--
7. Raffiniertes Oliventresteröl	- durch Raffination von rohem Oliventresteröl (<i>Kategorie 6</i>) gewonnenes Öl	≤ 0,3	≤ 5
8. Oliven-tresteröl	- Verschnitt von ausschließlich Öl aus der Behandlung von Rückständen der Olivenölgewinnung (<i>Kategorie 6 und 7</i>) und direkt aus Oliven gewonnenem Öl (<i>Kategorie 1 und 2</i>) ohne Vorgabe eines bestimmten Mischungsverhältnisses	≤ 1,0	≤ 15

¹ Maß für den Gehalt an freien Säuren, berechnet als Ölsäure je 100 g Olivenöl. Bestimmung erfolgt durch Titration mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung. [203, 204]

² Maß für den Gehalt an peroxidisch gebundenem Sauerstoff, berechnet als Äquivalentmasse des Sauerstoffs je kg Probe. Es ist ein dynamischer Wert, der in Abhängigkeit von den Lagerbedingungen (Licht, Temperatur, Alter) zunimmt und durch Folgereaktionen aber auch wieder abnimmt. Die Folgeprodukte der Hydroxyperoxide verursachen den typisch ranzigen Geschmack. Die Bestimmung erfolgt durch die Methode nach Wheeler. [203, 204]

Für die Überprüfung der Konformität eines Öles mit der deklarierten Güteklasse ist eine Vielzahl von chemisch-physikalischen Analysen und zusätzlich für native Öle eine sensorische Analyse vorgeschrieben. Die Zuordnung in die Güteklasse erfolgt aufgrund vorgegebener Grenzwerte für jeden Prüfparameter (siehe die in Tabelle 4.5 beispielhaft aufgeführten Parameter Säuregehalt und Peroxidzahl mit den entsprechenden Grenzwerten). Die Verfahren zur Bestimmung der Olivenölkategorien sind in der Verordnung (EG) Nr. 1989/2003 festgehalten. [202, 203]

4.4.4 Charakteristika und Inhaltsstoffe

Im Vergleich zu den Samenölen weist Olivenöl einen hohen Gehalt an MUFA auf. So ist die Ölsäure (C18:1) mit 55 - 83 % mengenmäßig dominierend. Der Anteil von PUFA ist deutlich geringer und setzt sich vorwiegend aus Linolsäure (C18:2) mit 3,5 - 21,0 %, Linolensäure (C18:3) mit ≤ 1,0 % und Arachidonsäure (C20:4) mit ≤ 0,6 % zusammen. Die Palmitinsäure (C16:0) mit 7,5 - 20,0 % und Stearinsäure C(18:0) mit 0,5 - 5,0 % sind die mengenmäßig bedeutendsten SFA

im Olivenöl. [203] Dieses Fettsäureprofil bedingt die im Vergleich zu den Samenölen höhere Widerstandsfähigkeit gegenüber oxidativen Schädigungen [205, 206]. Die Induktionszeit für die Autoxidation ist um so kürzer, je mehr Doppelbindungen die Fettsäuren im Speiseöl aufweisen [207]. Die genaue Fettsäurezusammensetzung variiert zwischen den Olivenölen, da diese vom Anbauort, Klima, Sorte und Reifegrad der Oliven abhängt [208].

Ein weiteres markantes Merkmal des nativen Olivenöles ist der hohe Gehalt an phenolischen Verbindungen. Phenole sind Substanzen, die sich durch ein aromatisches Ringsystem kennzeichnen, an dem ein oder mehrere Hydroxylgruppen oder daraus entstandenen Derivate gebunden sind [209, 210]. Es ist somit eine heterogene Stoffgruppe, die im sekundären Stoffwechsel von Pflanzen gebildet wird und dieser als Schutz vor schädlichen Umwelteinflüssen dienen [211, 212]. Natives Olivenöl enthält mindestens 30 phenolische Verbindungen, die somit eine sehr komplexe Fraktion darstellen [13, 213]. Dazu zählen die folgenden Gruppen (a) Oleuropein und Ligstrosid Aglykone und ihre Derivate, (b) Derivate einfacher Phenole (Phenylethylalkohol, Phenolsäuren), (c) Flavonoide (Luteolin, Apigenin) und (d) Lignane (Acetoxypinoresinol, Pinoresinol) [214, 215]. Die Phenolkonzentration stellt einen wichtigen Qualitätsparameter dar, da diese für den Geschmack und die Farbe verantwortlich ist sowie die Oxidationsstabilität des Olivenöles beeinflusst [19, 216-218]. Aufgrund der Raffination sind im raffinierten Olivenöl sowie in den Ölen aus Samensaat keine oder nur wenige Phenole nachweisbar [219]. Die Angaben über den Gesamtphenolgehalt im nativen Olivenöl variieren in der Literatur. So werden Konzentrationen von 50 - 800 mg/kg [193, 220-222] berichtet. Die Gesamtkonzentration und Zusammensetzung der phenolischen Verbindungen im Olivenöl werden von der Olivensorte, den klimatischen Bedingungen während der Olivenreife, dem Reifegrad der Oliven bei der Ernte, dem Ölgewinnungsprozess, den Lagerungsbedingungen und der Lagerzeit beeinflusst [207, 210, 223, 224].

Tocopherole stellen neben den bereits aufgeführten phenolischen Verbindungen mit einem Gehalt von 98 - 370 mg/kg eine weitere wichtige Substanzgruppe im Olivenöl dar [225]. Aufgrund der antioxidativen Eigenschaften ist der Gehalt der Tocopherole ein wichtiger Qualitätsparameter, da dieser zur Oxidationsstabilität des Öles beiträgt [208]. Eine weitere antioxidativ wirkende Substanz im Olivenöl ist Squalen, ein hochungesättigter aliphatischer Kohlenwasserstoff (C₃₀H₅₀). Dessen Gehalt variiert zwischen 136 - 708 mg/g und ist somit im Vergleich zu Samenölen deutlich höher. [208, 218, 226]. Weitere nennenswerte Verbindungen im Olivenöl sind Carotinoide (1 - 20 mg/kg Öl [227]), Phytosterole (10 - 20 mg/kg Öl [228]) und Chlorophyll (1 - 20 mg/kg Öl [208]).

4.5 Phenolische Verbindungen im Olivenöl – Oleuropein, Hydroxytyrosol und Tyrosol

Basierend auf epidemiologischen Daten, die eine niedrige CVD-Inzidenz in den mediterranen Ländern nachwies, wurde die Hypothese generiert, dass der hohe Konsum an phenolreichem Olivenöl kardioprotektive Wirkungen in sich birgt [13, 19, 229, 230]. Demzufolge rückten die phenolischen Komponenten des Olivenöles in den Mittelpunkt wissenschaftlicher Untersuchungen. Mengenmäßig sind die Derivate von Oleuropein und Ligstrosid sowie Hydroxytyrosol (OHT; 3,4-Dihydroxyphenylethanol) und Tyrosol (T; 4-Hydroxyphenylethanol) im nativen Olivenöl am relevantesten [213, 231]. Oleuropein und Ligstrosid, auch bezeichnet als Secoiridoide [13], liegen in der Olive vorwiegend glykosidisch gebunden vor. Während des Reifeprozesses der Olive wird der Glukoserest der Secoiridoid-Glykoside durch β -Glukosidasen abgespalten und es entstehen die Oleuropein- und Ligstrosid-Aglykone. Durch Hydrolyse wird Oleuropein zu Elenolsäure und OHT und Ligstrosid zu Elenolsäure und T gespalten (Abb. 4.7) [9]. Der Gehalt an Secoiridoiden nimmt somit im Verlauf der Olivenreife und beim Mahlprozess der Olivenölgewinnung ab und die Konzentration von OHT und T zu [213, 221, 223]. Oleuropein ist für den bitteren Geschmack des Öles und für die Bräunung der Oliven während des Reifeprozesses verantwortlich [212].

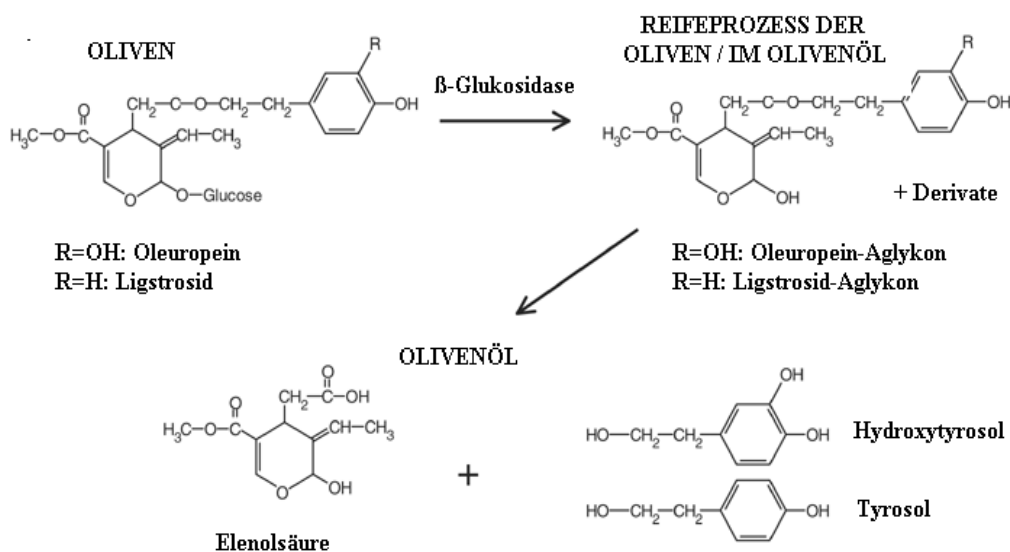


Abb. 4.7: Chemische Strukturen der in Oliven und Olivenöl vorwiegend vorkommenden phenolischen Verbindungen [9]

In der Olive liegen Oleuropein und Ligstrosid vorwiegend glykosidisch gebunden vor. Während der Olivenreife werden diese durch β -Glukosidasen in ihre Aglykone abgebaut. Im Olivenöl können die Oleuropein-Aglykone zu Elenolsäure und Hydroxytyrosol und die Ligstrosid-Aglykone zu Elenolsäure und Tyrosol hydrolysiert werden.

4.5.1 Pharmakokinetik

Die Bioverfügbarkeit und der Metabolismus der phenolischen Verbindungen aus dem Olivenöl im menschlichen Organismus sind noch nicht detailliert geklärt. Dabei ist die Kenntnis über Resorption, Metabolisierung und Ausscheidung bedeutsam für die Aussage über die biologische Aktivität dieser Verbindungen und ihrer Metabolite in den Organen. Über die Stoffgruppe der Polyphenole im Allgemeinen ist bekannt, dass die Aglykone im Dünndarm resorbiert werden können. Polyphenole in Form eines Esters, Glykosids oder Polymers, wie sie vorwiegend in Lebensmitteln vorkommen, müssen vor der Resorption durch Verdauungsenzyme oder durch die Mikroorganismen im Kolon hydrolysiert werden. Ist die Mikroorganismenflora beteiligt, sinkt meist die Effizienz der Resorption, da die Aglykone durch diese weiter verstoffwechselt werden können und somit nicht mehr zur Resorption zur Verfügung stehen. In den Enterozyten und später auch in der Leber unterliegen die Polyphenole Konjugationsreaktionen. Zu diesen zählen Methylierung, Sulfatierung und Glukuronidierung. Die Ausscheidung erfolgt vorwiegend über die Niere und die Galle, was einen enterohepatischen Kreislauf zur Folge hat. Bei der Ausscheidung der Polyphenole über die Gallenflüssigkeit ist eine erneute Resorption mit vorangegangener Hydrolyse durch Verdauungs- oder Bakterienenzyme möglich. [232-235]

Bei den phenolischen Verbindungen aus dem Olivenöl konnte anhand verschiedener Tier- und Humanstudien gezeigt werden, dass nach dem Verzehr von nativem Olivenöl oder nach der Verabreichung entsprechender Supplemente OHT und T im Plasma und im Urin nachweisbar sind [236-245]. Dies lässt den Schluss zu, dass beide Substanzen resorbiert werden können, wobei anhand verschiedener Studien eine dosisabhängige Resorption festgestellt wurde [236, 237, 246]. Die Studie von Vissers und Kollegen [247] an Probanden mit und ohne Kolonresektion zeigte, dass die phenolischen Verbindungen aus dem Olivenöl überwiegend im Dünndarm resorbiert werden. Die Resorption von Oleuropein wurde im Tierversuch nach Verabreichung von isoliertem Oleuropein als schlecht eingestuft und eine Bioverfügbarkeit von 41,3 % errechnet. Die genauen Resorptionsmechanismen von Oleuropein sind noch unklar. Als mögliche Mechanismen werden die parazelluläre Aufnahme, passive Diffusion durch die Membran der Enterozyten und die Aufnahme über Glukosetransporter diskutiert. [248] Anhand der Kolonzelllinie Caco2 konnte für ¹⁴C-markiertes OHT ein intestinaler Transport über bidirektionale passive Diffusion demonstriert werden [249]. Nach intravenöser Gabe von ¹⁴C-markiertem OHT bei Ratten zeigte sich bei der Studie von D'Angelo *et. al.* [241] eine schnelle und extensive Aufnahme der Verbindung in die Organe. Schon 5 min nach der Injektion waren nur noch 8 % ¹⁴C-markiertes OHT im Plasma nachweisbar und bereits Metabolite zu finden, was auf eine schnelle Metabolisierung hinweist. Das ¹⁴C-markierte OHT fand sich im Gehirn, Herz, Niere, Lunge und in der Skelettmuskulatur der Ratten. Dies deutet auf eine gute Verteilung im Organismus hin und zeigt die Fähigkeit von OHT, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden. Durch die Analyse der Organe und des Urins der Ratten konnten die folgenden vier oxidierten und/oder methylierten Metabolite bestimmt werden: Homovanillinalkohol (4-Hydroxy-3-methoxyphenylethanol), Homovanillinsäure (4-Hydroxy-3-methoxyphenylethylsäure), 3,4-Dihydroxyphenylacetaldehyd und 3,4-Dihydroxyphenylethylsäure.

Homovanillinsäure und 3,4-Dihydroxyphenylessigsäure stellen dabei gleichzeitig die Hauptmetabolite im Dopamin-Stoffwechsel dar [241, 250]. Die Abbildung 4.8 veranschaulicht den bisher beschriebenen Metabolismus von OHT. Im Humanurin nach Verzehr von nativem Olivenöl wurden von OHT die Metabolite Homovanillinsäure, Homovanillinalkohol [240] und 3-O-Methylhydroxytyrosol (MOHT) [250] identifiziert. Im Plasma als auch im Urin sind zusätzlich glukuronidierte und sulfatierte Derivate nachweisbar, was auf eine Metabolisierung durch Phase-II-Enzyme in der Leber hindeutet [236, 243, 250].

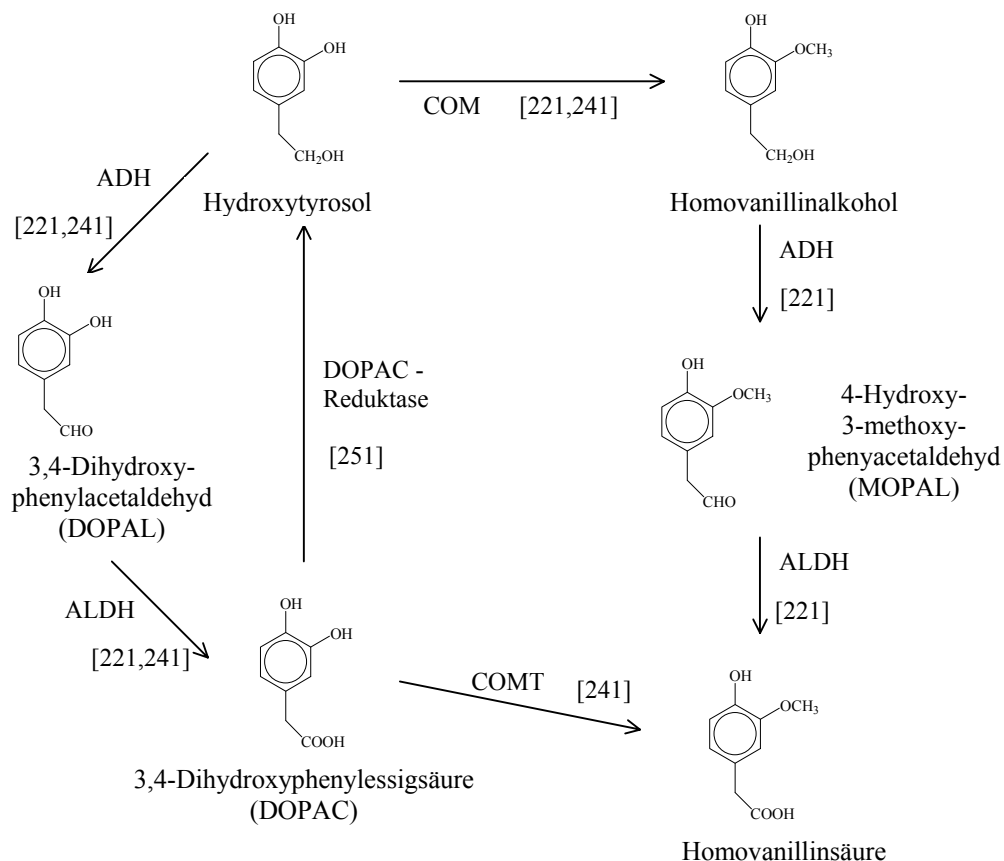


Abb. 4.8: Postulierter Metabolismus von Hydroxytyrosol *in vivo* [nach 221, 241, 251]

Im Rattenmodell konnten bisher von Hydroxytyrosol die Metabolite DOPAL, DOPAC, MOPAL, Homovanillinalkohol und -säure identifiziert werden. Es wird davon ausgegangen, dass Hydroxytyrosol ADH-katalysiert zu DOPAL und mittels ALDH zu DOPAC metabolisiert wird. Ebenso wurde die Neusynthese von Hydroxytyrosol aus DOPAC durch die DOPAC-Reduktase postuliert. Durch die COMT-katalysierte Reaktion kann DOPAC zu Homovanillinsäure abgebaut werden. Ein weiterer Abbauweg des Hydroxytyrosols stellt die COMT-katalysierte Reaktion zu Vanillinsäure dar. Diese wird durch ADH zu MOPAL und durch eine ALDH-katalysierte Reaktion zu Homovanillinsäure metabolisiert. Abkürzungen: COMT - Catechol-O-Methyltransferase, ADH - Alkoholdehydrogenase, ALDH - Aldehyddehydrogenase

Im Tierversuch wurden ^{14}C -markiertes OHT und dessen Metabolite überwiegend über den Urin (90 %) ausgeschieden und nur 10 % im Verdauungsbrei oder in den Fäzes gefunden [241]. Die Bioverfügbarkeit von OHT und T nach Verabreichung von Olivenöl wurde im Tierversuch auf jeweils 99 % und 98 % bestimmt [245]. Die Ausscheidungsraten für OHT und T im menschlichen Urin wiesen mit jeweils 29,0 - 98,8 % und 12,1 - 52,0 % eine hohe Variabilität auf [236, 242, 243]. Ursachen für die variierenden Messergebnisse finden sich in der unterschiedlichen Analysetechnik, der Nichtbeachtung der gleichzeitigen Zufuhr von Oleuropein und Ligstrosid mit

dem nativen Olivenöl oder in der Nichtbestimmung der Metabolite dieser Verbindungen. Der Anteil an glukuronidierten und sulfatierten Metaboliten im Plasma und im Urin ist dominierend (ca. 98 % für OHT-Konjugate [250]) [242, 244]. Beim Menschen überwiegt die Ausscheidung von glukuronidierten Derivaten [236, 250]. Im Tierversuch wurden vorwiegend sulfatierte Metabolite nachgewiesen [241]. Bislang ungeklärt ist, ob sich die Phenole aus dem Olivenöl in Humangewebe akkumulieren können, vor allem nach längerem kontinuierlichen Verzehr, ob und wie sie im Blut transportiert werden und in wie weit die biologische Aktivität von den Metaboliten ausgeht.

4.5.2 Potentielle Wirkungsmechanismen im kardiovaskulären System

Die bisher postulierten Wirkungsmechanismen im Zusammenhang mit CVD umfassen antioxidative, antithrombotische, antiinflammatorische und genregulatorische Effekte sowie Wirkungen auf die Gefäßfunktion (siehe Tab. 4.6).

Die antioxidative Kapazität von Oleuropein, OHT, T sowie von komplexen Phenolextrakten aus Olivenöl wurde vorwiegend anhand der Oxidation von LDL demonstriert, was vermutlich ein Schlüsselereignis in der Arterioskleroseentstehung darstellt [21, 31]. Unter Anwesenheit dieser Phenole zeigte sich eine konzentrationsabhängige Inhibierung der *in vitro* Metallion- oder Zell-induzierten LDL-Oxidation [15-18, 252-258]. Auch im Tiermodell konnte ein mehrwöchiger Olivenölverzehr die *in vitro*-induzierte Oxidation der isolierten LDL-Partikel durch Verlängerung der Lag-Phase mindern [259, 260]. Die Lag-Phase in der Kinetik der LDL-Oxidation beschreibt die Reaktion antioxidativ wirkender Substanzen mit den Lipidperoxyradikalen und deren Überführung in den nicht-radikalischen Zustand. Folglich wird die Kettenfortpflanzung gehemmt. Erst mit abnehmender Konzentration der Antioxidantien nimmt der Umfang der Kettenreaktion und somit die Bildung von Oxidationsprodukten zu. Die Analyse dieser Oxidationsprodukte, vorwiegend Fettsäuren mit konjugierter Dien-Struktur, Aldehyden und Alkanen, dient der Beurteilung des Umfangs der LDL-Oxidation. [261, 262] Des Weiteren fungieren die Olivenölphenole als Radikalfänger gegenüber verschiedenen ROS [14, 252, 263-266]. Für OHT wurde darüberhinaus die Regenerierung des α -Tocopheryl-Radikals zu α -Tocopherol beschrieben [16].

Neben diesen direkten antioxidativen Effekten können die phenolischen Verbindungen des Olivenöles auf den Redox-Status auch indirekt durch die Modulation pro- und antioxidativer Enzymsysteme Einfluss nehmen. So konnte durch die Anwesenheit der zu untersuchenden Substanzen die Aktivität von GSH-Px und GSSG-Rd [263, 267] induziert und die Aktivität der Lipoxygenase [268, 269], Xanthin-Oxidase [206] und Myeloperoxidase [270] inhibiert werden. Die Hemmung der Myeloperoxidase könnte auf die Fähigkeit der Olivenölphenole als Radikalfänger für Wasserstoffperoxid zu fungieren zurückzuführen sein [263, 270]. Wasserstoffperoxid stellt das Substrat dieses Enzyms dar, welches im „oxidativen burst“ zur reaktiven hypochlorigen Säure katalysiert wird. Folglich hat diese Hemmung auch eine antiinflammatorische Wirkung zur Folge.

Des Weiteren konnte ein Einfluss der Olivenölphenole auf die Eikosanoidbiosynthese beobachtet werden, wodurch diese in thrombotische und inflammatorische Geschehen eingreifen können. So wurde für Oleuropein, OHT und T die Inhibierung der Leukotrien-B₄-Synthese in tierischen [269]

und in humanen Leukozyten [271] beschrieben, was für ihre antiinflammatorischen Eigenschaften spricht. Dieser Effekt steht vermutlich mit der Lipoxygenase-Hemmung im Zusammenhang [269]. Weiterhin wurde unter Anwesenheit von OHT die Thromboxan-B₂- und 12-Hydroxyeikosatetraensäure-Synthese durch stimulierte humane Thrombozyten vermindert sowie die Thrombozytenaggregation inhibiert. Folglich könnte OHT vor thrombotischen und mikrothrombotischen Prozessen schützen. [272] In tierischen Leukozyten blieb diese Wirkung für die getesteten Phenole Oleuropein, OHT und T jedoch aus [269].

Das extrahierte Phenolgemisch aus nativem Olivenöl wirkte auf die Aorta von Ratten vasorelaxierend, wobei der Effekt bei Oleuropein, getestet als Einzelsubstanz, ausblieb. [258] Des Weiteren wirken OHT und T genregulatorisch durch die Verminderung der Expression von Zelladhäsionsmolekülen in Endothelzellen [20]. Oleuropein induzierte *in vitro* außerdem die mRNA Transkription von Glutathion-bezogenen Enzymen [263].

Tab. 4.6: Potentielle Wirkungsmechanismen der Olivenölphenole im kardiovaskulären System *in vitro* und im Tiermodell

biologische Aktivität	Substanz / Lebensmittel	<i>in vitro</i> und Tierstudien
• Radikalfänger für verschiedene ROS (z.B. Superoxidanion, Wasserstoffperoxid, Hydroxylradikale)	EVOO, Oleu, OHT, T	[14, 15, 252, 263-266]
• inhibiert ROS-Generierung durch Leukozyten	Oleu, OHT, T	[14, 269]
• inhibiert LDL-Oxidation	VOO, ROO, PC-Extrakt, O, OHT, T	[15-18, 252-257, 259, 260]
• regeneriert α -Tocopheryl-Radikal	OHT	[16]
• erhöht antioxidative Kapazität des Plasmas	OHT	[237]
• senkt F ₂ -Isoprostan-Bildung	OHT	[18, 273]
• reduziert Lipidperoxid-Bildung	OHT	[274]
• inhibiert Lipoxygenase	Oleu, OHT, T	[268, 269]
• inhibiert Xanthin-Oxidase	PC-Extrakt	[206]
• inhibiert Myeloperoxidase	Oleu, OHT, T	[270]
• induziert Glutathion-Peroxidase	OO, Oleu	[263, 267]
• induziert Glutathion-Reduktase	Oleu	[263]
• inhibiert die Thrombozytenaggregation	OHT, Oleu	[272]
• inhibiert die Bildung von Leukotrien-B ₄ , Thromboxan-B ₂ und 12-HETE	OHT, Oleu, T	[269, 271, 272]
• inhibiert NO-Generierung durch Makrophagen	Oleu	[275]
• vasorelaxierend	PC-Extrakt	[258]
• inhibiert Expression der Zelladhäsionsmoleküle VCAM-1, ICAM-1 und E-Selektin	Oleu, OHT	[20]
• aktiviert mRNA Transkription von Glutathion-bezogenen Enzymen	Oleu	[266]

EVOO - extra natives Olivenöl (*engl. extra virgin olive oil*), VOO - natives Olivenöl (*engl. virgin olive oil*), ROO - raffiniertes Olivenöl (*engl. refined olive oil*), OO - Olivenöl; PC - Phenol-Extrakt aus nativem Olivenöl, Oleu - Oleuropein, OHT - Hydroxytyrosol, T - Tyrosol, VCAM-1 - vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1, ICAM-1 - interzelluläres Zelladhäsionsmolekül-1, 12-HETE - 12 Hydroxyeikosatetraensäure

Die Ergebnisse aus der Vielzahl der Zellkultur- und Tierstudien lassen ein kardioprotektives Wirkungsspektrum der Olivenölphenole vermuten. Im Gegensatz dazu waren Resultate aus humanen Interventionsstudien zum Zeitpunkt der Konzeptplanung der vorliegenden Studie nur spärlich vorhanden. Ramirez-Tortosa und Kollegen [276] zeigten bei Männern mit peripherer vaskulärer Erkrankungen, dass ein jeweils dreimonatiger Konsum von 40 - 42 g/d extra nativem Olivenöl verglichen mit raffiniertem Olivenöl die LDL-Oxidation und die oxLDL-Aufnahme durch Makrophagen *ex-vivo* nach extra nativem Olivenölverzehr geringer waren. Jedoch variierten bei den applizierten Ölen neben dem Phenolgehalt auch der Vitamin-E-Gehalt und die Probanden wurden angewiesen ihren Obst-, Gemüse- und Leguminosenkonsum zu erhöhen. Der Vergleich von extra nativem und raffiniertem Olivenölverzehr war ebenso Schwerpunkt zweier folgenden Interventionsstudien. In der Studie von Masella *et al.* [277] konnte durch vierwöchigem Verzehr von 20 g/d extra nativem Olivenöl die *ex vivo* LDL-Oxidation sowie die Bildung verschiedener Oxidationsprodukte bei Hyperlipidämie-Patienten reduziert werden. Dagegen übte bei gesunden Probanden der jeweils dreiwöchige Verzehr von 69 g/d phenolreichem und phenolarmen Olivenöl keinen Einfluss auf die Blutlipide und verschiedene Oxidationsmarker aus [278]. Die postprandiale Wirkung nach einmaliger Applikation einer Mahlzeit mit polarer und unpolarer Phenolfraction sowie extra nativem Olivenöl bei gesunden Probanden untersuchten Vissers und Kollegen [279]. Dabei zeigte sich nach 2 h eine signifikante Verlängerung der Lag-Phase bei der *ex vivo* Kupfer-induzierten LDL-Oxidation nach Verzehr der polaren Phenolfraction und extra nativem Olivenöl aber ebenso nach Verzehr der Plazebomahlzeit. Schließlich beobachtete die Arbeitsgruppe von Visioli [280] bei gesunden Männern und Frauen nach Einmalgabe von 50 ml Olivenöl mit vier unterschiedlichen Oleuropein- und OHT-Konzentrationen eine sinkende renale F₂-Isop-Exkretion mit zunehmendem Phenolgehalt.

Aus dem dargestellten teils kontroversen Wissenstand zum Zeitpunkt der Studienplanung ergab sich ein weiterer Klärungsbedarf über die kardiovaskuläre Wirkung der Olivenölphenole *in vivo* basierend auf kontrollierten randomisierten Humanstudien. Dabei sollte das Studienkonzept speziell die Untersuchung der kardioprotektiven Wirkung der Olivenölphenole gewährleisten, was eine Aussage unabhängig von dem bereits als präventiv charakterisierten Fettsäuremuster ermöglicht. Daraus resultiert die Anforderung, dass sich im Ernährungsverhalten der Probanden einzig der Gehalt an aufgenommen phenolischen Verbindungen über das Olivenöl variiert. Eine ausreichende Absicherung des möglichen kardiovaskulären Wirkungsspektrums sollte durch eine umfangreiche Analyse geeigneter oxidativer Stressparameter sowie der Blutlipide erfolgen.

5 ZIELSTELLUNG

Epidemiologische Daten deuten darauf hin, dass sich die mediterrane Ernährungsweise vorteilhaft auf die Inzidenz von mit oxidativem Stress assoziierten kardiovaskulären Erkrankungen auswirkt. In diesem Zusammenhang wird vor allem die Bedeutung von Olivenöl als Hauptfettlieferant in der mediterranen Ernährung diskutiert. Mit einer Verzehrsmenge von 30 - 50 g pro Tag in den mediterranen Ländern liegt diese deutlich über dem durchschnittlichen Verbrauch in der deutschen Bevölkerung (0,85 l/Kopf/Jahr, entspricht ca. 2,5 ml/d). Olivenöl weist mit seinem hohen Anteil an einfach ungesättigten Fettsäuren, vorwiegend Ölsäure, ein besonderes Fettsäureprofil auf. Neben der Fettsäurezusammensetzung ist der hohe Gehalt an phenolischen Verbindungen eine weitere Besonderheit des nativen Olivenöles. Anhand einer Vielzahl von *in vitro* Studien konnte für diese Phenole eine antioxidative Wirkung belegt werden. Folglich könnte der Verzehr von phenolreichem Olivenöl aufgrund der beschriebenen antioxidativen Wirkung der Phenole vor durch reaktive Sauerstoffspezies verursachten oxidativen Schädigungen schützen und das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen senken.

Die vorliegende Arbeit geht daher der Frage nach, ob die phenolischen Komponenten des Olivenöles eine kardioprotektive Wirkung bei gesunden deutschen Männern ausüben. Die Beurteilung der kardioprotektiven Wirkung beruht dabei zum einen auf der Analyse der Blutlipide (Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyzeride) und zum anderen auf der Ermittlung oxidativer Schädigungen durch die Analyse von Biomarkern der Lipidperoxidation (oxidiertes LDL, oxidiertes LDL-Antikörper, F₂-Isoprostane, Hydroxyfettsäuren und konjugierte Diene) und endogener Antioxidantien (Superoxid-Dismutase, Paraoxonase, Glutathion, Glutathion-Peroxidase und -Reduktase). Basierend auf den Ergebnissen soll eine Empfehlung bezüglich des Olivenölverzehr für eine mögliche Verzehrstrategie bei gesunden deutschen Männer im Rahmen der Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen erstellt werden.

Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurde eine randomisierte cross-over doppelt-verblindete Interventionsstudie an gesunden Männern im Raum Berlin-Brandenburg durchgeführt. Diese Interventionsstudie bildete einen zentralen Bestandteil des europäischen Forschungsprojektes „Eurolive“¹. In jeweils drei dreiwöchigen Interventionsphasen konsumierten die Probanden täglich 25 ml natives, gemischtes oder raffiniertes Olivenöl. Die Interventionsphasen waren durch zweiwöchige Wash out-Perioden getrennt. Einzigartig im Studiendesign war die Verabreichung von drei Olivenölen, die bezüglich ihres Fettsäureprofils identisch waren und sich nur im Gehalt an phenolischen Verbindungen unterschieden. Dieses Konzept ermöglicht eine Aussage speziell zu den Wirkungen der Phenole im Olivenöl unabhängig von der Fettsäurekomposition.

¹ Eurolive - *The effect of olive oil consumption on oxidative damage*, QLK1-CT-2001-00287, finanziell unterstützt durch die Kommission der Europäischen Gemeinschaft

6 STUDIENKONZEPT UND UNTERSUCHUNGSMETHODEN

Die nachfolgend beschriebene Interventionsstudie wurde zum einen am Institut für Transfusionsmedizin der Charité Campus Mitte in Berlin und zum anderen in der ehem. Abteilung Interventionsstudien (jetzt Nachwuchsgruppe Ballaststoffe und Metabolisches Syndrom) des Deutschen Institutes für Ernährungsforschung (DIfE) in Potsdam-Rehbrücke durchgeführt. Die Affirmation des Studienkonzeptes erfolgte durch die Ethikkommissionen der Charité und der Universität Potsdam. Für die Bereitstellung und Qualitätsanalyse des Olivenöles sowie für die Analyse der beschriebenen Blut- und Urinparameter waren die Vertragspartner Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona, Spanien, und Oy Jurilab Ltd., Kuopio, Finnland, verantwortlich. Eine Gesamtübersicht aller am europäischen Forschungsprojekt Euroolive beteiligten Partner ist im Anhang 11.1 aufgeführt.

6.1 Probandenrekrutierung und Anforderungsprofil

Die Probandenrekrutierung erstreckte sich über den Zeitraum von November 2002 bis Januar 2003. Für die Studie wurden gesunde männliche Nichtraucher zwischen 20 und 60 Jahren gesucht. Dafür wurden entsprechende Pressemeldungen in Form von Annoncen und Zeitungsartikeln (siehe Anhang 11.2) in lokalen Zeitschriften in Potsdam und Berlin geschaltet. Außerdem wurden Flyer (siehe Anhang 11.2) an verschiedenen Standorten der Universität Potsdam und der Charité ausgehängt. Zusätzlich wurden ehemalige Probanden der Abteilung Interventionsstudien des DIfE angeschrieben und zur Teilnahme motiviert. Der Erfolg der verschiedenen Rekrutierungsmaßnahmen stellt sich anhand der Potsdamer Subpopulation wie folgt dar:

Tab. 6.1: Prozentuale Verteilung der unterschiedlichen Rekrutierungsmaßnahmen der Probanden des DIfE (n = 38)

Maßnahme	Prozentuale Verteilung
Beiträge in lokalen Zeitungen	39,5
Flyer	18,4
Ansprechen der Probanden durch Freunde/Bekannte	18,4
Anschreiben	15,8
Sonstiges	7,9

Interessenten kontaktierten daraufhin die Studienzentren. Mittels eines Telefoninterviews (siehe Anhang 11.4) wurden die ersten Ein- und Ausschlusskriterien abgefragt und den entsprechenden Kandidaten ein Fragebogen (siehe Anhang 11.4) zur Abklärung weiterer Ausschlusskriterien zugeschickt. Die nachfolgende Tabelle 6.2 fasst die Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme zusammen.

Tab. 6.2: Ausschlusskriterien für die Studienteilnahme

Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none">• Raucher• Einnahme antioxidativer Supplemente• Einnahme von Acetylsalicylsäure (Aspirin)• Einnahme anderer Medikamente mit antioxidativer Wirkung• Athleten mit hoher körperlicher Aktivität (> 3000 kcal/Woche Energieverbrauch in der Freizeit)• Übergewicht (BMI > 32 kg/m²)• Hypercholesterinämie (> 8,0 mmol/L) oder Indikationen für andere Fettstoffwechselstörungen• Diabetes mellitus• multiple Allergien• Zöliakie oder andere Magen-Darm Erkrankungen• eingeschränkte Mobilität der Probanden, welche Besuche in den Studienzentren unmöglich machen• ernsthafte Erkrankungen wie z.B. Krebs mit einer geringeren Lebenserwartung als 3 Jahre• andere Erkrankungen oder Umstände, die die Messparameter beeinflussen• Vegetarier oder Personen, die eine spezielle Diät verfolgen

Während der Studie wurden Probanden von der weiteren Teilnahme ausgeschlossen, wenn sie erkrankten, die Blutabnahmetermine in den Studienzentren nicht wahrnahmen oder eine mangelnde Compliance aufwiesen, indem sie beispielsweise unvollständige Protokolle oder 24-h-Urinsammlungen abgaben.

6.2 Screening und Randomisierung

Zeigte die Auswertung des Fragebogens keine Ausschlusskriterien, wurden die Interessenten zu einem Screening in die Studienzentren eingeladen. Dieses Screening umfasste die Analyse biochemischer und hämatologischer Parameter einer Nüchtern-Blutprobe und die Analyse einer Spontan-Urinprobe mittels eines Urinteststreifens (Combur 9, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Die analysierten Parameter sind in Tabelle 6.3 einzusehen. Für den Einschluss in die Studie mussten sich die ermittelten Parameter im Referenzbereich bewegen und folglich kein Wert eine Indikation für eine Erkrankung aufzeigen. Studieninteressenten, deren Analysewerte eine solche Indikation zeigten, wurden an ihren Hausarzt verwiesen. Außerdem mussten die Interessenten zur Abklärung der körperlichen Aktivität in der Freizeit ein Aktivitätsprotokoll (siehe Anhang 11.4) ausfüllen, das eine entsprechend angepasste Version des amerikanischen „Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire“ darstellte (siehe dazu Ausführungen Punkt 6.5.4.1). Anhand der eingetragenen Daten wurde der Energieverbrauch für Freizeitaktivitäten in der Woche berechnet.

Die Eignung zur Studienteilnahme war gegeben, wenn die medizinische Anamnese durch den Fragebogen Ein- und Ausschlusskriterien und die analysierten Blut- und Urinproben auf keine Erkrankung hinwiesen sowie die anthropometrischen Werte und Aktivitätsangaben die Einschlusskriterien erfüllten.

Tab. 6.3: Analytierte Blut- und Urinparameter im Rahmen der Screeninguntersuchung

Biochemische Parameter	Hämatologische Parameter	Urinteststreifen
<ul style="list-style-type: none"> • Serum Glukose • Gesamtcholesterin • Triglyzeride • Alanin Aminotransferase (ALAT) • Kreatinin 	<ul style="list-style-type: none"> • Leukozyten • Thrombozyten • Hämoglobin 	<ul style="list-style-type: none"> • pH-Wert • Glukose • Ketone • Bilirubin • Urobilinogen • Proteine • Erythrozyten • Leukozyten • Nitrat

Die anschließende Randomisierung der Probanden erfolgte mittels eines lateinischen Quadrates. So wurde für jeden Studienteilnehmer zufällig die Olivenölverzehrreihenfolge (siehe Ausführungen Punkt 6.3) und eine entsprechende Codenummer bestimmt. Die Randomisierung gewährleistete eine zufällige Verteilung von möglichen Störfaktoren innerhalb der Versuchsgruppen.

Die Interessenten, die als geeignet klassifiziert wurden, wurden im Rahmen einer Informationsveranstaltung und in Einzelgesprächen über die Ziele und den Ablauf der Studie informiert. Weiterhin wurden ihnen die Untersuchungsmethoden erläutert und entsprechende Materialien wie beispielsweise die Urinsammelbehälter oder die auszufüllenden Protokolle ausgehändigt. Jedem Probanden wurde ein Studientagebuch zusammengestellt, welches u.a. einen der Gruppe entsprechenden Studienablauf mit fixen Terminen (siehe Anhang 11.3), Hinweise zum Verzehr des Olivenöles, Handhabung der Olivenölbehälter sowie die Anleitung und Protokolle für die Sammlung des 24-h-Urins beinhalteten (siehe Anhang 11.3 und 11.4). Somit hatten die Studienteilnehmer die Möglichkeit, die ihnen im Gespräch vermittelten Informationen in Ruhe zu Hause noch einmal durchzulesen. Die Einwilligung zur Studienteilnahme wurde durch die Unterzeichnung der Einverständniserklärung gegeben (siehe Anhang 11.3).

6.3 Studiendesign

Wie aus den vorherigen Beschreibungen hervorgeht, handelt es sich bei der Studie um eine multizentrische und randomisierte Interventionsstudie. Alle Probanden begannen zeitgleich mit der zweiwöchigen Run in-Phase und durchliefen je dreimal dreiwöchige Interventionsperioden, in denen sie täglich 25 ml von jeweils drei Olivenölsorten verzehrten. Bei den Olivenölen handelte es sich um natives (phenolreich), gemischtes (mittlerer Gehalt an Phenolen) und raffiniertes Olivenöl (annähernd phenolfrei). Die Verzehrreihenfolge der Olivenölsorten wurde für jeden Probanden bei der Randomisierung festgelegt. Zwischen den Interventionswochen befand sich jeweils eine zweiwöchige Wash out-Phase. Demnach weist die Studie ein cross-over Design auf, das heißt jeder Proband durchläuft die gleichen Interventionsphasen und stellt somit seine eigene Kontrolle dar. Der Ablauf der Studie wird in Abbildung 6.1 veranschaulicht.

Während der Run in- sowie in den beiden Wash out-Phasen war der Verzehr von Olivenöl untersagt. In den drei Olivenölverzehrperioden durfte ausschließlich das vom Studienzentrum ausgehändigte Olivenöl konsumiert werden. Die habituelle Ernährungsweise sollte über den gesamte Studienzeitraum beibehalten werden. Die Run in- sowie die Wash out-Phasen dienten dazu, vor Beginn des Verzehrs des jeweiligen Olivenöls bei allen Probanden annähernd bzw. wieder annähernd gleiche Ausgangsbedingungen zu schaffen und den Einfluss des davor verzehrten Öls auf die nachfolgende Verzehrsperiode zu minimieren (physiologische Clearance).

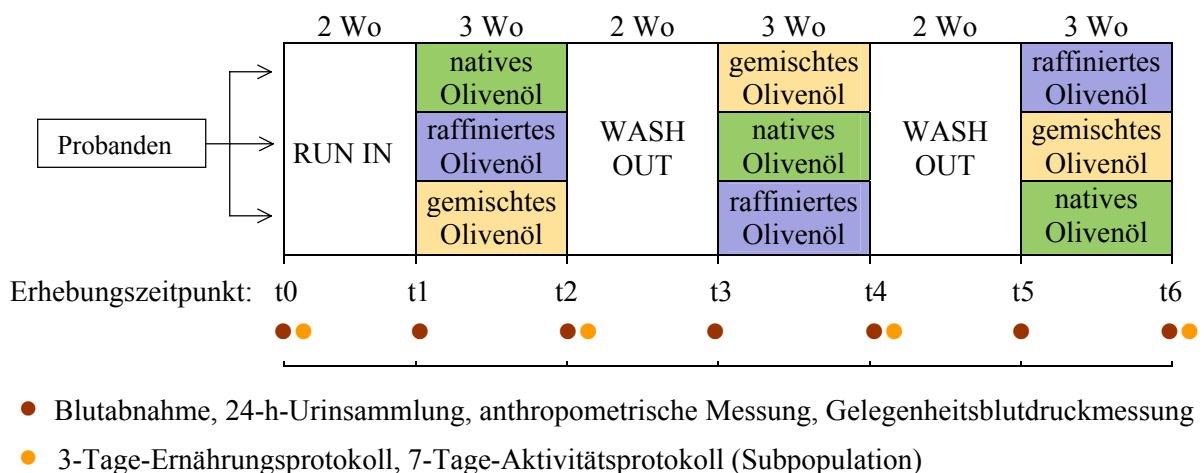


Abb. 6.1: Studiendesign

Zu Baseline (t0) und jeweils zu Beginn und Ende der Olivenölverzehrperioden (t1 bis t6) wurden den Probanden Nüchternblutproben abgenommen und ihr Gewicht und Gelegenheitsblutdruck dokumentiert. Außerdem sollten sie ihren am Tag zuvor gesammelten 24-h-Urin mitbringen. Bei jedem Besuch im Studienzentrum wurden die Probanden angehalten, einen Anamnese-Fragebogen (siehe Anhang 11.4) auszufüllen, in dem das Auftreten von Beschwerden und Erkrankungen seit der letzten Blutabnahme sowie die Einnahme von Medikamenten und Nahrungsergänzungspräparaten abgefragt wurde. Zu Baseline (t0) wurde zusätzlich die Größe und der Taille-Hüft-Umfang ermittelt sowie ein soziodemographischer Fragebogen und ein Fragebogen zur familiären Krankengeschichte (siehe Anhang 11.4) von den Studienteilnehmern beantwortet.

Zum Studienbeginn (t0) und jeweils zum Ende der Olivenölverzehrperiode (t2, t4, t6) wurden die Studienteilnehmer aufgefordert, ein 3-Tage-Ernährungsprotokoll zu führen, so dass das Protokollheft zum Blutabnahmeterrin ausgefüllt mitgebracht werden konnte. Eine Subpopulation (n = 38) wurde zusätzlich angehalten, zeitlich überlappend zum 3-Tage-Ernährungsprotokoll über sieben Tage ihre körperliche Aktivität zu dokumentieren.

6.4 Olivenöl der Studie

6.4.1 Charakterisierung des Olivenöles

Das in der Studie verwendete Olivenöl stammt aus dem Olivenanbaugebiet Picual in Andalusien (Spanien). In einem ersten Schritt wurden verschiedene native Olivenöle, welche aus jeweils unterschiedlichen Olivenernten gepresst wurden, bezüglich ihres Phenolgehaltes untersucht. Das Olivenöl mit dem höchsten Gehalt an phenolischen Verbindungen wurde für die Studie als „phenolreiches Öl“ verwendet. Anschließend wurden die aus sortengleichen Oliven von der selben Ernte hergestellten raffinierten Olivenöle bezüglich ihres Fettsäureprofils untersucht. Für die Studie wurde das raffinierte Olivenöl als „annähernd phenolfreies“ Öl gewählt, welches am meisten der Fettsäurezusammensetzung des nativen Olivenöles entsprach. Weiterhin wurde die α -Tocopherol Konzentration in beiden Ölen bestimmt und der Gehalt des raffinierten Olivenöles dem nativen Öl angepasst. Durch Mischung des nativen und raffinierten Olivenöles, wurde ein Öl mit mittlerem Phenolgehalt gewonnen. Die drei Olivenöle unterschieden sich somit signifikant im Phenolgehalt, aber nicht signifikant in ihrer Fettsäurezusammensetzung sowie im Gehalt an α -Tocopherol, Squalenen und β -Sitosterol, wie Tabelle 6.4 veranschaulicht. Zusätzlich wurden die Qualitätsparameter Säure- und Peroxidgehalt für jedes Öl bestimmt.

Tab. 6.4: Charakteristik der in der Studie verwendeten Olivenölsorten¹

Parameter	Olivenölsorte		
	raffiniert	gemischt	nativ
Säuregehalt ² (% Ölsäure)	0,03	0,08	0,18
Peroxidzahl ³ (mEq O ₂ /kg)	4,12	5,89	11,28
Fettsäuren (%)			
C14:0	0,01	0,01	0,01
C16:0	10,63	10,50	10,63
C16:1	0,88	0,86	0,88
C17:0	0,05	0,05	0,04
C17:1	0,09	0,09	0,09
C18:0	3,27	3,13	2,84
C18:1	79,08	79,80	80,60
C18:2	4,64	4,21	3,35
C18:3	0,58	0,58	0,58
C20:0	0,39	0,39	0,35
C20:1	0,26	0,25	0,25
C22:0	0,11	0,10	0,10
C24:0	0,01	0,02	0,02
α -Tocopherol (μ g/g)	229	228	228
Phenolische Verbindungen ⁴ (μ g/g)	2,7	164	366
Squalene (mg/g)	3,0	3,2	3,4
β -Sitosterol (mg/g)	1,4	1,5	1,5

¹ Analyse durchgeführt im Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona, Spanien

² Maß für den Gehalt an freien Säuren, berechnet als Ölsäure-%. Bestimmung erfolgt durch Titration mit ethanolischer Kaliumhydroxidlösung. [203, 204]

³ Maß für den Gehalt an peroxidisch gebundenen Sauerstoff, berechnet als Äquivalentmasse des Sauerstoffs je kg Probe. Es ist ein dynamischer Wert, der in Abhängigkeit von den Lagerbedingungen (Licht, Temperatur, Alter) zunimmt und durch Folgereaktionen aber auch wieder abnimmt. Die Folgeprodukte der Hydroxyperoxide verursachen den typisch ranzigen Geschmack. Die Bestimmung erfolgt durch die Methode nach Wheeler. [203, 204]

⁴ Summe der in Tabelle 6.5 aufgeführten phenolischen Verbindungen

Eine genaue Aufschlüsselung der im nativen Olivenöl nachweisbaren phenolischen Verbindungen ist in Tabelle 6.5 zu sehen. Demnach sind die Derivate von Oleuropein und Ligstrosid mengenmäßig dominierend. Hydroxytyrosol und Tyrosol, welche durch Hydrolyse aus Oleuropein und Ligstrosid gebildet werden [9], sind in geringeren Anteilen im Öl vorhanden. Alle weiteren aufgeführten einfachen Phenole und Flavonoide sind nur in sehr geringen Konzentrationen nachweisbar.

Tab. 6.5: Prozentuale Zusammensetzung der phenolischen Verbindungen des in der Studie verwendeten nativen Olivenöles¹

Phenolische Verbindungen	Prozentualer Anteil im nativen Olivenöl
Einfache Phenole	
• Hydroxytyrosol	11,36 %
• Tyrosol	4,36 %
• Vanillinsäure	0,01 %
• Vanillin	0,04 %
• p-Coumarsäure	0,05 %
Secoiridoide	
• Ligstroside Derivate + Aglykone	18,24 %
• Oleuropein Derivate + Aglykone	64,86 %
Flavonoide	
• Luteolin	0,56 %
• Apigenin	0,24 %
• Metoxyluteolin	0,25 %

¹ Analyse durchgeführt im Institut Municipal d'Investigació Mèdica, Barcelona, Spanien

6.4.2 Lagerung, Management der Olivenölbehälter und Stabilitätskontrolle

Die Olivenöle wurden, abgefüllt in 5 l Plastikflaschen, den jeweiligen Studienzentren zugeschickt.

Für die Doppelverblindung waren die Öle bereits mit einem Zahlencode versehen:

580 – natives Olivenöl (phenolreich)

430 – gemischtes Olivenöl (mittlerer Phenolgehalt)

780 – raffiniertes Olivenöl (annähernd phenolfrei)

Bis zur Abfüllung der Olivenöle für die Probanden wurden diese bei 4 °C im Dunkeln aufbewahrt. Am Ende jeder Wash out-Periode wurden für jeden Teilnehmer jeweils 21 Plastikbehälter mit je 25 ml des entsprechenden Olivenöles gefüllt. Die folgende Abbildung 6.2 zeigt die drei Olivenölsorten mit der entsprechenden Codierung in solchen Behältern. Die angebrochenen 5 l Plastikflaschen wurden anschließend mit Stickstoff begast, um



Abb. 6.2: Olivenöle mit Codierung

möglichen oxidativen Reaktionen des Öles mit dem im Behälter verbleibenden Sauerstoff vorzubeugen und wieder bei 4 °C im Dunkeln gelagert. Die Kühlung im Dunkeln sollte zusätzlich UV-Strahlen- und temperaturbedingte Schädigungen des Fettsäureprofils minimieren. Außerdem nimmt der Gehalt an phenolischen Verbindungen und Vitamin E während der Lagerung im Licht stärker ab als im Dunkeln [281]. Um mögliche Qualitätsveränderungen solcher Art zu erfassen, wurden in dreimonatigen Abständen die Öle einer Stabilitätskontrolle unterzogen.

Ebenso wurden die Probanden angewiesen, das Olivenöl an einem trockenen, relativ dunklen Platz aufzubewahren, um Qualitätsveränderungen vorzubeugen. Allerdings sollten sie das Olivenöl über die jeweiligen drei Wochen bei Zimmertemperatur und nicht im Kühlschrank lagern, um eine Ausflockung der u.a. auch phenolischen Verbindungen zu vermeiden. Für eine Überprüfung eventuell größerer Rückstände in den Plastikflaschen und somit nicht verzehrter Ölmengen sollten die Studienteilnehmer am Ende der Olivenölverzehrperiode alle Behälter wieder mitbringen.

6.4.3 Richtlinien für den Verzehr des Olivenöles und der habituellen Ernährung

Das Olivenöl sollte vom Studienteilnehmer nicht zusätzlich zum gewöhnlich konsumierten Öl bzw. Fett konsumiert werden, sondern dieses ersetzen und somit auch über den Tag verteilt verzehrt werden. Weiterhin wurden die Probanden angewiesen das Olivenöl roh zu essen, d.h. ohne vorherige Erwärmung. Demnach konnten sie es nicht zum Kochen, Braten oder Backen verwenden, sondern erst nach der Zubereitung der warmen Mahlzeit der Speise zusetzen. Falls für mehrere Personen Essen zubereitet wurde, sollte die Anreicherung der Mahlzeit mit dem Olivenöl erst nach der Portionierung auf dem eigenen Teller erfolgen. Das restliche auf dem Teller verbleibende Öl sollte mit Brot aufgetunkt werden, so dass ein vollständiger Verzehr gewährleistet wurde. Während der Studie durfte ausschließlich nur das vom Studienzentrum ausgehändigte Olivenöl konsumiert werden.

Die Probanden wurden angewiesen, ihre habituelle Ernährungsweise im Verlauf der Studie beizubehalten. Um einer erhöhten Aufnahme an Antioxidantien und phenolischen Verbindungen vorzubeugen, wurde der Verzehr der folgenden Lebensmittel und Lebensmittelgruppen pro Tag wie folgt eingeschränkt:

- 2 Portionen Gemüse bzw. Gemüsesäfte
(1 Portion entspricht 100 - 150 g oder Stück bzw. 200 ml)
- 3 Portionen Obst bzw. Obstsäfte
(1 Portion entspricht 100 - 150 g/Stück bzw. 200 ml)
- 3 Tassen schwarzen Tee bzw. Kaffee
(1 Tasse entspricht 150 ml)
- 2 Schokoladenriegel (je 50 g) oder eine halbe Tafel Schokolade (50 g)
- 2 Gläser Rotwein
(1 Glas entspricht 200 ml)
- maximal 1 l Bier

Außerdem sollten Oliven sowie speziell mit Vitaminen und Mineralstoffen angereicherte Lebensmittel (z.B. ACE-Säfte, Multivitaminsäfte) nicht konsumiert werden. Diese Richtlinien zum Umgang mit dem Olivenöl und zur habituellen Ernährung wurden den Probanden schriftlich ausgehändigt (Anhang 11.4).

6.4.4 Fragebogen zum Olivenölverzehr

Zum Studienende wurden die Probanden gebeten eine Fragebogen zum eigenen Olivenölverzehr (siehe Anhang 11.4) auszufüllen. Darin wurde abgefragt, ob schon vor Studienbeginn Olivenöl konsumiert wurde und ob es bereits Verwendung im eigenen Haushalt fand. Weiterhin wurde erfasst, inwieweit die Probanden gewillt waren, zukünftig Olivenöl für den Eigenverbrauch zu kaufen und welches Olivenöl dafür bevorzugt werden würde. Dieser Fragebogen umfasste außerdem die Frage nach der Geschmacksrichtung, die das Olivenöl bevorzugt aufweisen sollte.

6.5 Untersuchungsmethoden

6.5.1 Anthropometrie

Die anthropometrischen Messungen umfassten die Bestimmung des Körpergewichts, der Körpergröße und des Taille- und Hüftumfangs. Diese Daten dienen der Berechnung des Body Mass Index (BMI) und des Taille-Hüfte-Quotienten (THQ).

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht (kg)} / \text{Körpergröße (m)}^2$$

$$\text{THQ} = \text{Taillenumfang (cm)} / \text{Hüftumfang (cm)}$$

Für die Ermittlung des Körpergewichts wurden die Probanden in leichter Unterwäsche gewogen (Soehnle S10_2720, Murrhardt, Deutschland) und das Ergebnis auf 100 g gerundet. Bei der Bestimmung der Körpergröße (GPM Anthropometer, Siber & Hegner, Zürich, Schweiz) wurde auf eine definierte Körperhaltung geachtet [282]. Das heißt, die Studienteilnehmer standen aufrecht mit der Orientierung des Kopfes in der Ohr-Augen-Ebene. Die Körperlast musste auf beiden Füßen gleichmäßig verteilt sein und die Füße dabei eine leichte V-Position (Fußspitzen divergieren) einnehmen. Die Arme hingen seitlich gestreckt am Körper herab und die Schultern wurden locker und gerade gehalten. Die ermittelte Körpergröße wurde auf 1 cm gerundet dokumentiert. In der beschriebenen Körperhaltung wurde ebenfalls der Taille- und Hüftumfang bestimmt. Die Ermittlung des Taillenumfangs erfolgte mittig zwischen dem unteren Rippenbogen und dem Hüftknochen (kleinster Umfang in Höhe des seitlichen Taillenpunktes). Der Hüftumfang wurde am größten Umfang in Höhe des Hüftpunktes gemessen [283]. Beide Werte wurden auf 0,0 - 0,5 cm gerundet.

6.5.2 Gelegenheitsblutdruckmessung

Der Blutdruck wurde durch Gelegenheitsblutdruckmessungen immer vor den Blutabnahmen ermittelt. Dafür wurde ein vollautomatisches Oberarmblutdruckmessgerät (Medicus Memory, Bosch & Sohn, Jungingen, Deutschland) verwendet, welches auf einem oszillometrischen Messprinzip beruht. Diese Messmethode basiert auf den Druckschwankungen der Pulswelle (Oszillation), welche vom Druckwandler des Gerätes registriert und in Blutdruckwerte umgerechnet wird. Die stärkste Oszillation wird dem mittleren arteriellen Druck gleichgesetzt und mit Hilfe eines Algorithmus der systolische und diastolische Blutdruck ermittelt. [284] Die Blutdruckmessung am Oberarm gilt als Standardmethode, da die Messung unmittelbar in Herzhöhe erfolgt. Demnach sind gängige Normwerte auch auf Oberarmmessungen bezogen. [285]

Für die Vergleichbarkeit der Blutdruckwerte wurden die Messungen unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Die Ermittlung des Blutdrucks erfolgte immer in Ruhe. Das heißt der Proband sollte sich unmittelbar vorher (mindestens eine Stunde) nicht körperlich schwer belastet oder psychisch erregt haben und direkt vorher fünf Minuten ruhig sitzen. Während der Messung musste der Proband eine entspannte Sitzhaltung einnehmen, die Beine nicht überkreuzen, den Messarm ruhig halten und nicht sprechen. Die Manschette wurde am linken Oberarm ca. 2,5 cm über der Ellenbeuge angebracht, so dass der aufblasbare Teil auf der Arterie (*Arteria brachialis*) der Innenseite ansetzte. Dabei wurde darauf geachtet, dass vor dem Aufpumpen noch kein Druck auf die Arterie durch die Manschette ausgeübt wurde. Außerdem wurde die Messung ohne beengende Kleidung vorgenommen, beispielsweise auch nicht der Ärmel hoch geschoben, da es den venösen Rückstrom im Arm behindert und folglich die Venenstauung den Blutdruck erhöht. Die Bestimmung des Blutdrucks erfolgte zu jedem Blutabnahmeterrmin zweimal in mindestens fünfminütigem Abstand. Anschließend wurde der Durchschnitt beider Messungen ermittelt.

6.5.3 Erfassung der Energie- und Nährstoffzufuhr

Für die Erfassung der Nährstoff- und Energiezufuhr wurden die Probanden aufgefordert, zu Baseline und jeweils am Ende jeder Olivenölverzehrperiode ein 3-Tage-Ernährungsprotokoll zu führen. Dies diente der Abschätzung des Einflusses von Störgrößen und der Kontrolle der vorgegebenen Ernährungsrichtlinien. Bei dieser Methode der Ernährungserhebung handelt es sich um eine direkte prospektive Methode, welche den laufenden Verzehr erfasst. Um das Verzehrverhalten an Wochentagen sowie am Wochenende zu dokumentieren, sollte das Protokoll sonntags begonnen und dienstags beendet werden. Die Verzehrsmengen wurden mittels haushaltsüblichen Maßangaben geschätzt. Um die Protokollführung zu vereinfachen, wurden entsprechende Protokollhefte (siehe Anhang 11.4) erstellt und mit einer ausführlichen Anleitung und einem Beispielprotokolltag versehen. Abbildungen von unterschiedlichen Portionsgrößen verschiedener Gemüsesorten wurden zur besseren Einschätzung der verzehrten Menge dem Studientagebuch beigelegt. Zusätzlich erfolgte in der Informationsveranstaltung zu Beginn der Studie eine ausführliche Einweisung in die Protokollführung. Die Probanden wurden angewiesen

den Verzehr unmittelbar nach dem Essen zu protokollieren, damit die Genauigkeit nicht so stark von der Gedächtnisleistung des Teilnehmers abhing.

Die Schätzprotokolle wurden mittels der Ernährungsauswertungssoftware PRODI® 4,5 LE 2001 (Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, Deutschland) hinsichtlich der Energie- und Nährstoffaufnahme ausgewertet. Diese Software basiert inhaltlich auf dem 1994 erschienenen Bundeslebensmittelschlüssel Version II,2 (BLS) und wird zusätzlich durch Produktdaten aus der Lebensmittelindustrie und Daten von Souci-Fachmann-Kraut [286] ergänzt. Der BLS ist eine computergestützte Nährstoffdatenbank zur Umrechnung von Mengen verzehrter Nahrungsmittel in Nährstoffzufuhrwerte. Er wurde von der Verzehrskommission des Bundesgesundheitsamtes von 1982 bis 1984 entwickelt und soll eine einheitliche, standardisierte Grundlage für die Auswertung von Ernährungserhebungen in der Bundesrepublik Deutschland schaffen. Aktuell ist die Bundesforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel für die kontinuierliche Pflege dieser Datenbank zuständig.

6.5.4 Erfassung der körperlichen Aktivität

Neben der Dokumentation des Ernährungsverhaltens während der Studie wurde auch die körperliche Aktivität der Probanden eruiert. Die Ermittlung des retrospektiven Aktivitätsverhaltens in der Freizeit zum Screening war obligat für die Entscheidung über die Studienteilnahme. Ein Energieverbrauch in der Freizeit größer als 3000 kcal pro Woche führte zum Studienausschluss, da eine erhöhte körperliche Belastung die Bildung von reaktiven Sauerstoffradikalen verursachen und folglich oxidativen Stress induzieren kann [287]. Neben der retrospektiven Erfassung der körperlichen Aktivität zum Screening wurde im Verlauf der Studie zeitüberschneidend zum 3-Tage-Schätzprotokoll die körperlichen Aktivität über sieben fortlaufende Tage von einer Subpopulation (n = 38) dokumentiert. Diese Eruiierung diente der Validierung der Ernährungserhebung. Beide Erhebungsinstrumente werden im Folgenden näher erläutert.

6.5.4.1 Retrospektives Aktivitätsprotokoll zur Erfassung der Freizeitaktivität

Zur Beurteilung der Aktivität in der Freizeit wurde zum Screening von den Probanden ein retrospektives Aktivitätsprotokoll (siehe Anhang 11.4) ausgefüllt. Dieses Protokoll stellt eine adaptierte Form des amerikanischen „Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire“ dar [288, 289]. Die adaptierte Version dieses Aktivitätsprotokolls konzentriert sich auf die Aktivitätsgruppen Laufen, Treppe steigen, körperlich anstrengende Tätigkeiten wie bspw. Gartenarbeit und Sport. Dabei wird im ersten Fragenteil nach der Häufigkeit (Tage/Monat) und im zweiten Fragenteil nach der Dauer (Minute/Tag) der Aktivität gefragt. Jede Tätigkeitsgruppe liegt einer sogenannten MET-Intensität² (in kcal/min) zugrunde [288, 290]. Das Produkt aus MET-Intensität, Häufigkeit und Dauer mit anschließender Division durch vier ergibt den

² Verhältnis zwischen metabolischer Umsatzrate für die jeweilige Aktivität und dem Ruheumsatz pro Stunde und kg Körpergewicht

Energieverbrauch pro Woche für die jeweilige Tätigkeitsgruppe. Der Gesamtenergieverbrauch pro Woche resultiert aus der Summe des Energieverbrauches der einzelnen Tätigkeitsgruppen. [288]

6.5.4.2 *Prospektives Aktivitätsprotokoll zur Validierung der Ernährungserhebung*

Das vorliegende prospektive Aktivitätsprotokoll (siehe Anhang 11.4) wurde anhand der Isotopendilutionsmethode mit doppelt markiertem Wasser, dem Goldstandard zur Ermittlung des Energieverbrauches, validiert ($r = 0,880$; $p < 0,001$) [291].

Damit Verzerrungen durch Probanden mit unregelmäßigen Arbeitszeiten oder sonstigen unregelmäßigen körperlichen Aktivitäten eingeschränkt werden, erfolgte die Protokollierung über sieben aufeinanderfolgende Tage und beinhaltete folglich die Aktivität an Werktagen als auch am Wochenende. Die Aktivitäten im Protokoll umfassen die Kategorien Schlaf- und Ruhezeiten, Aktivitäten während der Berufstätigkeit, Haushalt- und Freizeitaktivitäten und Sport. Jede Kategorie gibt mehrere Aktivitätsgruppen mit adäquaten Beispieltätigkeiten vor. Die Aktivitätsgruppen wurden entsprechend ihrer MET-Intensität zusammengestellt [292]. Zusätzlich gibt es für jede Kategorie eine Zeile für sonstige, nicht aufgeführte oder für den Probanden nicht zuordenbare Tätigkeiten, die nachträglich vom Untersucher aufgrund ihres MET-Wertes in die jeweilige Aktivitätsgruppe eingeordnet wurden. Neben der Spalte mit den Aktivitätskategorien enthält das Protokoll für die Erfassung eines Tages 96 Spalten, die jeweils 15 Minuten repräsentieren. Die Probanden wurden aufgefordert, viertelstündlich ihre Tätigkeit einer Aktivitätsgruppe zuzordnen und anzukreuzen. Um das normale Aktivitätsverhalten nicht zu beeinflussen, war es gestattet die Tätigkeiten für wenige Stunden retrospektiv zu dokumentieren. Dem Protokollheft wurde zum besseren Verständnis für den Probanden auf den ersten Seiten eine kurze Anleitung beigelegt.

Für die Berechnung des Energieverbrauches wurden die Zeitangaben je Aktivitätsgruppe ermittelt, mit dem jeweiligen MET-Wert multipliziert und die Summe für alle Aktivitätsgruppen pro Tag gebildet. Anschließend wurde dieser Summenwert mit dem Körpergewicht des Probanden multipliziert, um den Energieverbrauch in kcal pro Tag zu erhalten [290, 291]. Fehlende oder doppelte Angaben gingen mit einer festgesetzten MET-Intensität von 1,5 in die Berechnung ein.

6.5.5 Blutuntersuchungen

Für die Analyse der nachfolgend aufgeführten Parameter wurden den Probanden zu Beginn der Studie und jeweils zu Beginn und Ende der Olivenölverzehrperioden Blut abgenommen. Die Studienteilnehmer wurden gebeten, mindestens 10 Stunden vor der Blutabnahme keine Nahrung mehr zu sich zu nehmen und maximal nur noch Wasser zu trinken. Die Blutabnahmen erfolgten im Liegen mit Hilfe eines geschlossenen Blutabnahmesystems durch eine entsprechende Fachkraft. Für die Gewinnung des Plasmas wurden die EDTA-Blutröhrchen nach der Blutabnahme zwischenzeitlich in einem Eisbad aufbewahrt und anschließend zentrifugiert. Die Serum-Blutröhrchen wurden vor der Zentrifugation für eine ausreichende Blutgerinnung mindestens 30 min bei Raumtemperatur verwahrt. Aufgrund auftretender Oxidationsvorgänge im Röhrchen wurden diese auch nicht länger als 40 min stehen gelassen. Für die genaue Einhaltung dieses

Zeitraumes wurde der Zeitpunkt der Blutabnahme dokumentiert. Die Zentrifugation beider Röhren erfolgte 15 min bei 1.000 G und 4 °C. Nach der Aliquotierung der entsprechenden Mengen wurden die Proben unverzüglich bei -80 °C eingefroren.

Die Probengewinnung sowie alle vorbereitenden Schritte bis zum Einfrieren und Versand der Proben erfolgte in den beiden Studienzentren. Die Analyse der Serumlipide, Serumglukose, oxidierten LDL (oxLDL), oxidierten LDL-Antikörper (OLAB), Glutathion-Peroxidase (GSH-Px), Glutathion-Reduktase (GSSG-Rd), reduziertes (GSH) und oxidiertes Glutathion (GSSG) wurden im Institut Municipal d'Investigació Mèdica (Barcelona, Spanien) durchgeführt. Oy Jurilab Ltd. (Kuopio, Finnland) war für die Bestimmung der konjugierten Diene (CD), Hydroxyfettsäuren (OHFA), F₂-Isoprostane (F₂-Isop), Paraoxonase (PON) und Superoxid-Dismutase (SOD) verantwortlich.

Geräte, Materialien und Chemikalien

Blutabnahmesystem	Vacutainer™ Glas Whole Blood Tube, K3EDTA 15 % Solution 10 ml, 10 x 16 mm, Becton & Dickinson, Heidelberg, Deutschland
	Vacutainer™ Glas Serum Tube, no additive, silicone coated 10 ml, 100 x 16, Becton & Dickinson, Heidelberg, Deutschland
	Vacutainer™ Blutentnahmeset 21 G, 3/4", 17 cm Schlauchlänge, grün, Becton & Dickinson, Heidelberg, Deutschland
	Einmalbehälter aus Kunststoff, Becton & Dickinson, Heidelberg, Deutschland
Zentrifuge	Heraeus, Multifuge 3S-R, Hanau, Deutschland
	Hettich, Universal 30 RF, Tuttlingen, Deutschland
Analysenwaage	Sartorius, LP 5200 P, Göttingen, Deutschland
Saccharose	Merck, Darmstadt, Deutschland
Perchloridsäure 69 %	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
Bathophenanthrolin-Disulfonsäure	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland
N-Ethylmaleimid	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland

6.5.5.1 Serumlipide und Serumglukose

Serumglukose, Gesamtcholesterin (tChol), HDL-Cholesterin (HDL-C) und Triglyzeride (TG) wurden enzymatisch mit Hilfe enzymatischer Kits (Roche Diagnostics, Basel, Schweiz) und dem Cobas-Mira-Plus-Autoanalyser (Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) analysiert [293]. Der inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 2,8; 2,6; 4,6 und 2,9 % für Glukose, tChol, HDL-C und TG [294]. Die Berechnung der Konzentration des LDL-Cholesterins (LDL-C) erfolgte auf der Grundlage der Friedewald Formel [295] basierend auf den Werten von tChol, TG und HDL-C.

Friedewald-Formel: $LDL-C = tChol [mmol/l] - TG [mmol/l] / 2,2 - HDL-C [mmol/l]$

6.5.5.2 *Marker der Lipidperoxidation*

Oxidiertes LDL

Die Konzentration von oxLDL im Plasma wurde mittels ELISA einem enzymatisch zweiseitigem Immunoassay basierend auf der direkten Sandwich-Methode bestimmt (oxLDL, Mercodia AB, Uppsala, Schweden). Dazu wurden in die Vertiefungen der mit monoklonalen Antikörpern mAb-4E6 versehenen Mikrotiterplatten 25 µl der Probe aufgetragen und 2 h bei Raumtemperatur auf einem Plattenschüttler mit 100 µl Assay-Puffer inkubiert. Dabei bindet der monoklonale Antikörper mAb-4E6 das oxLDL. Die Bindung erfolgt am Apolipoprotein B100 Epitop, das als Konsequenz der Aldehydsabstitution des Lysinrests des Apolipoprotein B100 entsteht. Nach mehrmaligem Waschen der Mikrotiterplatte mit bidestilliertem Wasser verdünntem Waschpuffer wurde 100 µl Peroxidase-konjugierte Antihuman-Apolipoprotein B-Antikörper in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben und 1 h bei Raumtemperatur inkubiert. Während dessen bindet sich der Peroxidase-konjugierte Antihuman-Apolipoprotein B-Antikörper mit dem oxLDL. Nach einem erneuten Waschvorgang mit Waschpuffer wurde das gebundenen Konjugat für die spektralphotometrische Detektierung mit 200 µl 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin versehen und 15 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Reaktion wurde durch Hinzugabe von 50 µl 0,5 M Schwefelsäure gestoppt. Die quantitative Bestimmung von oxLDL wurde anschließend spektralphotometrisch bei 450 nm ermittelt. Der intra- and inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 2,8 % and 7,3 %. [293, 296]

Oxidierte LDL-Antikörper

Die Bestimmung der OLAB-Konzentration im Serum erfolgte mittels ELISA (OLAB, Biomedica, Wien, Österreich). Für die Analyse wurden die mit Kupfer-oxidierten LDL beschichteten Mikrotiterstreifen mit 200 µl Verdünnungspuffer benetzt und 20 µl der 1:5 verdünnte Serumprobe innerhalb von 15 min aufgetragen. Der Mikrotiterstreifen wurde abgedeckt bei 37 °C für 1,5 h inkubiert. Anschließend wurde der Inhalt der Vertiefungen verworfen und die Mikrotiterstreifen mit 4 x 300 µl Waschpuffer gewaschen. Nach Hinzugabe von 100 µl des spezifischen Peroxidase-konjugierter Antihuman-Immunglobulin G-Antikörper wurden die Mikrotiterstreifen bedeckt bei Raumtemperatur für 30 min inkubiert. Daran schlossen sich erneute Waschritte mit jeweils 300 µl Waschpuffer. Für die spektralphotometrische Analyse wurden die Mikrotiterstreifen mit 100 µl 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin versehen und 15 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Durch Hinzugabe von 50 µl 0,5 M Schwefelsäure wurde die Reaktion gestoppt. Die Messung der Extinktion erfolgte bei 450 nm. Der intra- and inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 4,8 % und 7,9 %. [293]

Konjugierte Diene

Als weiterer Biomarker zur Bestimmung der Oxidation von LDL wurde die Bildung von CD in den LDL-Partikeln spektralphotometrisch nach der Methode von Ahotupa et. al. [106] gemessen. Als vorbereitenden Schritt für die Ausfällung der LDL-Partikel aus dem Serum wurden direkt nach der Blutabnahme 4,5 ml Plasma mit 45 µl 18 mM Saccharoselösung versetzt und anschließend bei

-80 °C eingefroren. Zur Analyse wurde 1 ml des mit Saccharose angereicherten Plasma mit 7 ml Heparin-Citrat-Puffer (0,064 M Trinatriumphosphat mit 50.000 IU/l Heparin; pH adjustiert auf 5,05 mittels 5 N Salzsäure) gemischt und die Suspension 10 min bei Raumtemperatur stehengelassen. Die unlöslichen Lipoproteine wurden 10 min bei 1.000 G zentrifugiert und das Pellet in 0,1 M Natriumphosphatpuffer (pH 7,4; 0,9 % Natriumchlorid) aufgenommen [297]. Durch eine anschließende Ultrazentrifugierung erfolgte die Isolierung der LDL-Partikel [298]. Für die Extraktion der Lipide aus den LDL wurde den isolierten Partikeln eine Chloroform-Methanol-Lösung (Verhältnis 2:1) zugesetzt. Nach anschließender Trocknung unter Stickstoff wurde das Pellet in Cyclohexan gelöst und die Menge an konjugierten Dienen spektralphotometrisch bei 234 nm und 300 nm bestimmt. Die Absorptionseinheiten ($\Delta A_{234} - A_{300}$) wurden auf Grundlage des molekularen Extinktionskoeffizienten $2,95 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ in molare Einheiten umgerechnet. Die Ermittlung der Konzentration der CD basierte auf der vorangegangenen Bestimmung der Cholesterinkonzentration in den LDL-Partikeln. Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient beträgt 4,4 und 4,5 % [299].

F₂-Isoprostane

Die Analyse der freien F₂-Isop im Plasma basierte auf der von Morrow & Roberts [300] entwickelten Nachweismethode mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie. Dafür wurde die Plasmaprobe mit 1 M HCl auf einen pH von 3,0 angesäuert und mit einer definierten Menge an Deuterium(d₄)-markierten F₂-Isoprostanen (²H₄]8-iso-PGF₂) als internem Standard versehen. Anschließend erfolgte in zwei Schritten die F₂-Isop-Extraktion durch eine C₁₈- und eine Kieselerde-Sep-Pak-Säule (Waters Associates, Milford, MA). Dazu wurde die Probe auf die mit 5 ml Ethanol und 5 ml Wasser vorkonditionierte C₁₈-Sep-Pak-Säule gegeben und mit 10 ml Wasser und 10 ml Heptan gewaschen. Die Eluierung der F₂-Isoprostane fand mittels 10 ml Ethylacetat/Heptan (50:50, v/v) statt. Das Eluat wurde anschließend unter wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und auf die Kieselerde-Sep-Pak-Säule aufgetragen. Die Säule wurde durch 5 ml Ethylacetat gewaschen und die F₂-Isop durch 5 ml Ethylacetat/Methanol (50:50, v/v) eluiert. Das Eluat wurde unter Stickstoff vollständig eingeengt. Anschließend erfolgte die Veresterung der F₂-Isoprostane mit Pentafluorbenzyl durch Reaktion des getrockneten Eluats mit 40 µl 10 % Pentofluorbenzylbromid in Acetonitril und 20 µl 10 % N,N-Diisopropylethylamin in Acetonitril (Raumtemperatur, 30 min). Die Probe wurde unter Stickstoffbegasung getrocknet und die Prozedur wiederholt. In der folgenden Dünnschichtchromatographie (Lösungsmittel Chloroform/Ethanol 93:7, v/v) erfuhr die Probe eine erneute Aufreinigung. Die F₂-Isop migrieren nahe den zusätzlich aufgetragenen Prostaglandin-F₂-methylestern. Die entsprechende Bande wurde aus dem Kieselerdegel abgetragen, die Probe mittels Ethylacetat extrahiert und unter Stickstoff vollständig eingeengt. Nach der Derivatisierung der F₂-Isop zu Trimethylsilyl etherderivat durch 20-minütiger Inkubation bei 40 °C mit 20 µl N,O-Bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid und 10 µl Dimethylformamid wurde die F₂-Isoprostan-Konzentration mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie mit Negativ-Ionen chemischer Ionisation bestimmt. Grundlage der Konzentrationsbestimmung war das Verhältnis der Peakintensität von F₂-Isop (m/z 569) zum

internen Standard (m/z 573). Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 9,0 % [122].

Hydroxyfettsäuren

Für die Bestimmung der Konzentration der OHFA im Plasma wurde zunächst die Lipidfraktion nach der von Folch *et al.* [301] beschriebenen Methode extrahiert. Die extrahierten Lipide wurden in 1 ml Methanol/Toluol (1:1, v/v) mit 5 mg Platin als Katalysator gelöst, 20 s mit Wasserstoff begast und 15 min bei Raumtemperatur sowie anschließend 1 h bei 70 °C auf einen Magnetrührer gestellt. Durch die Hydrierung wurde das Risiko weiterer Oxidationsreaktionen während der Aufarbeitung der Probe eliminiert. Daran schlossen sich die Schritte der Verseifung und Methylierung. Dazu wurde zunächst die Probe mit 2 ml 1 M Kaliumhydroxid in 95 % Methanol versetzt und bei 80 °C 1 h erhitzt. Die Extraktion der OHFA erfolgte durch wiederholte Hinzugabe von 4 ml Hexan/Ether (1:1, v/v), wobei die obere Schicht jeweils verworfen wurde. Die Methylierung der eingengten Probe fand durch Zugabe von 200 µl Diazomethan statt. Zur Separation der hydroxylierten von den nicht hydroxylierten Fettsäuren wurde die erneut eingengte Probe in 2 x 250 µl Hexan/Ethylacetat (95:5, v/v) gelöst und auf eine mit 5 ml Hexan/Ethylacetat (98:2, v/v) vorkonditionierte C₁₈-Festphasen-Minisäule (LC-Si SPE tubes, 3 ml, Supelco, Bellefonte, PA) gegeben. Die nicht hydroxylierten Fettsäuren wurden mit 5 ml Hexan/Ethylacetat (95:5, v/v) eluiert und verworfen, wogegen OHFA mit 5 ml Hexan/Ethylacetat (80:20, v/v) eluiert, gesammelt und das Lösungsmittel entfernt wurde. Die Derivatisierung der Probe erfolgte durch Methylierung der OH-Gruppen mit Tetramethylammoniumhydroxid. Dazu wurden die aufgereinigten OHFA in 2 x 100 µl Methanol/Dichlormethan (1:1, v/v) gelöst, das Lösungsmittel verdampft und erneut in 50 µl Methanol/Dichlormethan mit 0,5 % Tetramethylammoniumhydroxid aufgenommen. Die Konzentration der OHFA im Plasma wurde anschließend mittels Gaschromatographie/Elektronenstoß-Ionisierung Massenspektrometrie bestimmt und als gesamt C₁₈-OHFA berechnet [302]. Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 5,0 % [122].

6.5.5.3 Endogene Antioxidantien

Glutathion-Peroxidase-Aktivität

Die Analyse der GSH-Px-Aktivität im Plasma basiert auf folgender durch das Enzym katalysierter Oxidation: $\text{ROOH} + 2 \text{GSH} \rightarrow \text{GSSG} + \text{ROH} + \text{H}_2\text{O}$

Bei der Nachweismethode handelte es sich um eine Modifizierung der Methode von Paglia & Valentine [303]. Als Oxidationsmittel zur GSH-Oxidation fand Cumolhydroperoxid Verwendung (Ransel RS 505, Randox Laboratories, Crumlin, UK). Die Messung erfolgte mittels des Cobas-Mira-Plus-Autoanalyser bei 37 °C (Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz). Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 3,6 und 5,43 %. [294]

Glutathion-Reduktase-Aktivität

Die Grundlage zur Ermittlung der GSSG-Rd-Aktivität im Plasma bildet die durch das Enzym katalysierte Reduktion von GSSG mit $\text{NADPH} + \text{H}^+$ zu 2 GSH und NADP^+ (Ransel GR 2368, Randox Laboratorien) [304]. Dabei lässt das Maß der Umwandlung von $\text{NADPH} + \text{H}^+$ zu NADP^+ einen Rückschluss auf die GSSG-Rd-Aktivität zu. Die Konzentration von $\text{NADPH} + \text{H}^+$ in der Probe wird photometrisch bei 340 - 400 nm [305] mittels Cobas-Mira-Plus-Autoanalyser (Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) bei 37 °C gemessen [304]. Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 3,5 und 4,4 % [304].

Reduziertes Glutathion

Die Bestimmung der Konzentration des GSH im Vollblut wurde zur Proteinextraktion unmittelbar nach der Blutabnahme 0,5 ml EDTA-Vollblut mit 0,5 ml 12 % Perchlorsäure, 2 mM Bathophenanthrolin-Disulfonsäure versetzt. Der nach der Zentrifugation (5 min bei 6.000 G) entstandene Überstand wurde bis zur Analyse bei -80 °C eingefroren. Der aufgetaute Überstand wurde mit 2 M Kaliumhydroxid und 0,3 M Morpholinopropan-Sulfonsäure neutralisiert. Die Analyse des GSH erfolgte anschließend mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie. [305]

Oxidiertes Glutathion

Für die exakte Analyse des Gehaltes an GSSG im Vollblut ist die Prophylaxe vor fortlaufender Glutathion Autoxidation in der Probe relevant. Demzufolge wurde direkt nach der Blutabnahme 0,5 ml des EDTA-Vollblutes mit 40 mM N-Ethylmaleimid versetzt [305]. Zur Proteinextraktion wurde zusätzlich 0,5 ml 12 % Perchlorsäure mit 2 mM Bathophenanthrolin-Disulfonsäure hinzugefügt und die Probe 5 min bei 5.000 G zentrifugiert. Der saure Überstand wurde bei -80 °C bis zur finalen Analyse eingefroren. Der aufgetaute Überstand wurde mit 50 µl 1 mM γ -Glutamyl-Glutamat in 0,3 % Perchlorsäure versetzt und mit 2 M Kaliumhydroxid und 0,3 M Morpholinopropan-Sulfonsäure auf einen pH-Wert von 8,0 bis 8,5 eingestellt. Danach wurde die Probe 5 min bei 15.000 G zentrifugiert und 25 µl des Überstandes mit 50 µl 1% 1-Fluoro-2,4-dinitrobenzen 45 min derivatisiert. Die Analyse erfolgte mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie mit den Lösungsmitteln 80 % Methanol und 0,5 M Natriumacetat in 64 % Methanol als mobile Phase. Die detaillierte Methodenbeschreibung wurde von Asensi *et. al.* publiziert [306, 307].

Paraoxonase-Aktivität

Die Bestimmung der PON-Aktivität beruht auf der Enzym katalysierten Hydrolyse von Paraoxon zu p-Nitrophenol und Diethylphosphat. Die Enzymaktivität wurde anhand der Geschwindigkeit der Bildung von p-Nitrophenol ermittelt. Die photometrisch Konzentrationsbestimmung von p-Nitrophenol erfolgte bei 504 nm und 37 °C im Cobas-Mira-Plus-Autoanalyser (Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) in einer mit 5 mmol/l Paraoxon, 1,9 mmol/l Kalziumchlorid, 90 mmol/l Tris-Hydrochlorid (pH 8,5) und 3,6 mmol/l Natriumchlorid angereicherten Serumprobe. Der molare

Extinktionskoeffizient von p-Nitrophenol beträgt $18053 \text{ mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ bei einem pH-Wert von 8,5. Die PON-Aktivität von 1 U/l wird definiert als Bildung von 1 μmol p-Nitrophenol pro Minute. [165, 308] Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 0,78 % und 1,69 % [293].

Superoxid-Dismutase-Aktivität

Die SOD katalysiert die Reaktion von Superoxidanion zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff [309]. Als Maß für die Aktivität der SOD in den Erythrozyten wurde nicht die Konzentration von Superoxidanionen direkt bestimmt, sondern die Hemmungsrate der 2-(4-Iodophenyl)-3-(4-Nitrophenol)-5-Phenyltetrazoliumchlorid-Reduktion (Ransel RS 125, Radox Laboratories, San Diego, CA, USA). Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient beträgt jeweils 4,74 und 5,64 %. [141, 293]

6.5.6 Urinuntersuchungen

Zu Baseline und jeweils zu Beginn und Ende der Olivenölverzehrperioden wurden die Probanden aufgefordert, über 24 Stunden ihren Urin zu sammeln. Die Studienteilnehmer sollten am ersten Tag der Urinsammlung den Morgenurin noch verwerfen und die Sammlung erst mit der zweiten Urinabgabe beginnen und dann jede weitere Probe im Behälter sammeln. Die letzte Urinprobe, die in den Sammelbehälter gefüllt werden sollte, war der Morgenurin des nächsten Tages. Die Probanden wurden angehalten den Urin erst in einen Messbecher abzugeben, das Volumen zu bestimmen, im Urinprotokoll (siehe Anhang 11.4) zu dokumentieren und dann erst in den Sammelbehälter zu überführen. Dieses Verfahren diente der Kontrolle des später ermittelten Gesamtvolumens des Urins. Die entsprechenden Materialien (Urinsammelbehälter, Messbecher) wurden den Probanden vorher ausgehändigt sowie eine genaue Anleitung und Tipps, um einem versehentlichen Vergessen vorzubeugen (siehe Anhang 11.4).

Der 24-h-Urin, welcher teilweise von den Probanden in mehreren Sammelbehältern abgegeben wurde, wurde zur Bestimmung des Gesamtvolumens in einem Messbecher zusammengeführt. Vor der Aliquotierung wurde diese zusammengeführte Urinsammlung homogenisiert, um ein möglichst gut durchmischtes Aliquot zu erhalten. Dem Aliquot von 25 ml wurde 0,5 ml einer 0,5 M Natriumbisulfit-Lösung zugesetzt und unverzüglich bei $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ bis zur Analyse eingefroren. Alle vorbereitenden Schritte bis zum Einfrieren und Versand der Proben erfolgte in den beiden Studienzentren. Die Analyse der phenolischen Marker wurden im Institut Municipal d'Investigació Mèdica (Barcelona, Spanien) durchgeführt.

Geräte, Materialien und Chemikalien

Analysenwaage	Sartorius, LP 5200 P, Göttingen, Deutschland
Natriumbisulfit	Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland

6.5.6.1 Tyrosol, Hydroxytyrosol und 3-O-Methylhydroxytyrosol

Die Substanzen Tyrosol (T), Hydroxytyrosol (OHT) und 3-O-Methylhydroxytyrosol (MOHT) wurden als phenolische Marker im 24-h-Urin gemessen. Für die Hydrolyse der phenolischen Verbindungen im Urin zu ihren Aglykonen wurden die Proben mit 250 µl 6 N Salzsäure für 20 min bei 100 °C inkubiert. Durch Hinzugabe von 130 µl Natriumhydroxid wurde der pH-Wert auf 3 - 3,5 eingestellt. Für die Flüssig-Flüssig Extraktion wurden die Proben mit 6 ml Acetonitril/Ethylacetat (1:4) versehen und 30 min auf einem Rüttler homogenisiert. Nach 5 minütiger Zentrifugation bei 300 G wurde die organische Phase bei 25 °C unter Stickstoff bis zur Trockene eingengt. Die getrocknete Probe wurde mit 100 µl N-Methyl-N-Trimethylsilyltrifluoroacetamid/Ammoniumjodid/2-Mercaptoethanol (1000:2:6, v/w/v) für 60 min bei 60 °C derivatisiert. Der Nachweis der phenolischen Marker erfolgte mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie (Hewlett-Packard, Palo Alto, USA), bestehend aus einem HP5980 Gaschromatographen, HP5973 massenselektiven Detektor und HP7683 Injektor. Der intra- und inter-assay Variationskoeffizient für Tyrosol, Hydroxytyrosol und 3-O-Methylhydroxytyrosol beträgt jeweils 4,7; 3,8; 1,3 % und 3,0; 6,0; 6,6 %. [242, 294].

6.6 Statistische Auswertung

Die Fallzahlschätzung für die Studie basierte auf den Ergebnissen zur Lipidperoxidation von vorherigen klinischen Studien des Institut Municipal d'Investigació Mèdica (Barcelona, Spanien), welches ebenfalls im Projekt involviert war [310, 311]. Dabei wurde eine ausreichende statistische Power (> 80%) für jedes einzelne Studienzentrum angenommen. Für eine mittlere Differenz zwischen den Behandlungen von 25 ± 16 % betrug die Power 100 % bei einer Fallzahl von $n = 30$ pro Zentrum und einem $\alpha = 0,05$ (geschätzte Differenz für raffiniertes vs. natives Olivenöl). Für eine mittlere Differenz zwischen den Behandlungen von 8 ± 14 % betrug die Power 84 % bei einer Fallzahl von $n = 30$ pro Zentrum und einem $\alpha = 0,05$ (geschätzte Differenz für raffiniertes vs. gemischtes Olivenöl).

Bei der Überprüfung der Normalverteilung der Daten mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test zeigte sich eine fehlende Normalverteilung bei den meisten Variablen. Folglich wurde der Datensatz logarithmiert, um eine Annäherung an die Normalverteilung zu erhalten. Die logarithmierten Daten bildeten die Grundlage für alle Signifikanztests. Die dargestellten Parameter werden als geometrischer Mittelwert \pm Standardfehler des Mittelwertes (SEM) oder untere und obere Grenze des SEM angegeben, sofern im Text nicht anders vermerkt. Die Variablen der soziodemographischen Parameter und der Familienanamnese werden in prozentualen Häufigkeitsverteilungen aufgeführt. Anhand der univariaten Varianzanalyse (ANOVA) wurden die Unterschiede zwischen den randomisierten Olivenölverzehrgruppen zur Baseline ermittelt. Die Untersuchung von signifikanten Unterschieden zwischen den Verzehrgruppen bei der Häufigkeitsverteilungen der soziodemographischen Variablen und der Familienanamnese erfolgte mittels exaktem Test nach Fisher. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten nach Pearson zwischen Energiezufuhr und -verbrauch bildete die Grundlage für die Validierung der

Ernährungserhebung durch das 3-Tage-Ernährungsprotokoll anhand des 7-Tage-Aktivitätsprotokolls. Der Student's t-Test für gepaarte Stichproben fand im Mittelwertsvergleich der renalen Ausscheidung der phenolischen Marker zwischen Beginn und Ende der jeweiligen Olivenölverzehrperiode Anwendung. Mit Hilfe des gemischte linearen Modells wurden signifikante Veränderungen im Verlauf der Studie (Interventionseffekt), Unterschiede vor und nach Olivenölverzehr (Olivenöleffekt) und Unterschiede im Phenolgehalt der drei Olivenöle bestimmt (Phenoleffekt). Die Analysen beruhen auf der Berechnung der jeweiligen Differenzen. Demnach bildeten für die Analyse des Interventionseffektes die Differenzen von den Erhebungszeitpunkten t_1 bis t_6 zur Baseline (t_0) und für den Olivenöleffekt die Differenz von Beginn und Ende der Run in-Phase ($\Delta_{t_1 - t_0}$) und der Differenz von Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem Olivenöl die Grundlage. Die Berechnung des Phenoleffektes basiert auf der Differenzenbildung zwischen den Anfangs- und Endwerten des raffiniertem, gemischten und nativen Olivenölverzehrs. Aufgrund der nur viermaligen Erhebung des Ernährungsverhaltens beruht die Analyse des Olivenöleffektes nicht auf dem Vergleich der Veränderungen, sondern auf dem der Absolutwerte. Unabhängig von der Fragestellung wurde im gemischten linearen Modell als Kovariate der jeweilige Baselinewert, das Alter sowie die Differenz der Fettzufuhr und als fester Faktor die Olivenölverzehrreihenfolge festgelegt. Bei den Ernährungsparametern erfolgte grundsätzlich keine Adjustierung für die Differenz der Fettzufuhr und zusätzlich bei der Ermittlung des Olivenöleffektes keine Adjustierung für die Baselinewerte. Als fester Faktor bei der Analyse des Interventionseffektes kam die Variable Zeit, beim Olivenöleffekt die Variable Treatment und beim Phenoleffekt die Variable Olivenölsorte hinzu. Die Probandennummer wurde als zufälliger Faktor in die Auswertung integriert, um die Ergebnisse für alle Probanden zu generalisieren. Außer dem gemischten linearen Modell, welches mittels SAS 8.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC) berechnet wurde, erfolgte die statistische Auswertung mit dem Softwarepaket SPSS 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL). Für alle verwendeten statistischen Tests wurde ein zweiseitiges Signifikanzniveau von $p < 0,05$ festgelegt.

7 ERGEBNISSE

7.1 Veränderungen im Stichprobenumfang

Aufgrund von Zeitungsanzeigen und Flyern bekundeten insgesamt 193 Männer Interesse an der Studienteilnahme. Von diesen sandten 16 Personen den Fragebogen zur Abklärung weiterer Ausschlusskriterien (siehe Anhang 11.4) nicht zurück und 18 waren nicht mehr bereit, an der Studie teilzunehmen. Weitere 57 Interessenten erfüllten anhand der Fragebogenauswertung die Einschlusskriterien für die Studie nicht. Von den zum Screening eingeladenen Probanden ($n = 102$) wurden 28 ausgeschlossen, weil sie entweder Ausschlusskriterien aufwiesen ($n = 24$) oder nach dem Screening nicht mehr bereit waren, an der Studie teilzunehmen ($n = 4$). Insgesamt konnten 74 Männer den jeweiligen Olivenölverzehrreihenfolgen randomisiert zugeordnet werden und die Studie beginnen. Im Verlauf der Studie wurden vier Probanden ausgeschlossen. Von diesen zeigte ein Teilnehmer eine mangelnde Compliance und drei konnten nicht alle Blutabnahmetermine im Studienzentrum wahrnehmen. Insgesamt haben 70 Probanden die Studie beendet, deren Daten zur Auswertung zur Verfügung standen. Die Veränderungen im Stichprobenumfang im Studienzeitraum sind in Abbildung 7.1 veranschaulicht.

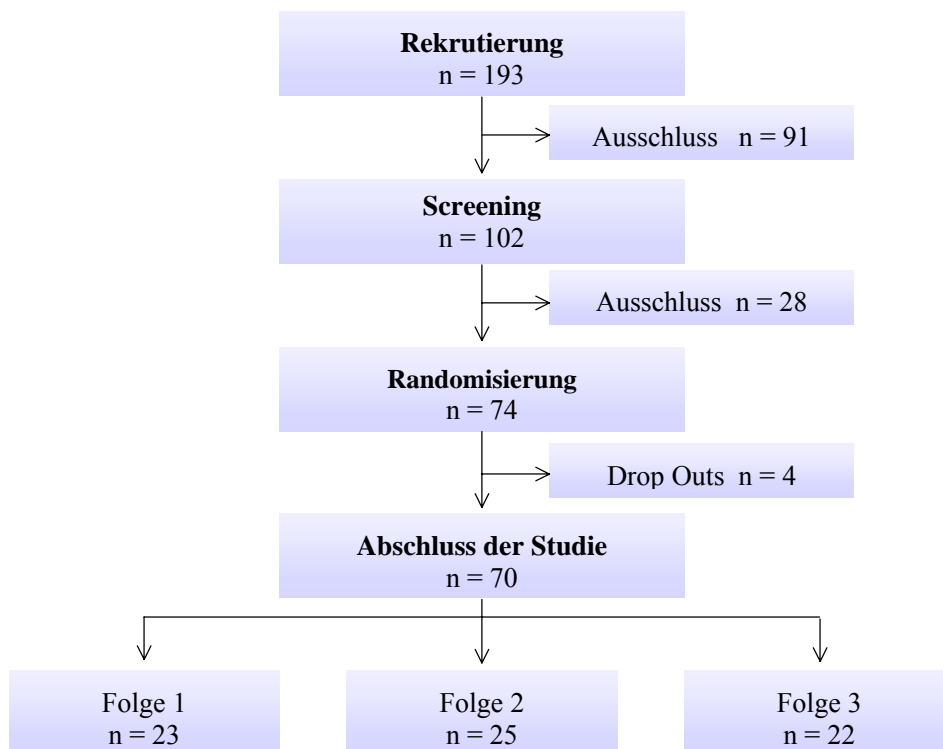


Abb. 7.1: Veränderungen im Stichprobenumfang während des Studienzeitraumes; Verzehrsfolge 1: nativ - gemischt - raffiniert; Verzehrsfolge 2: gemischt - raffiniert - nativ; Verzehrsfolge 3: raffiniert - nativ - gemischt

7.2 Charakterisierung der Probanden

Das Ausscheiden einiger Probanden im Verlauf der Studie hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Charakteristika der Gesamtpopulation und der einzelnen Verzehrgruppen. Die Tabelle 7.1 gibt die anthropometrischen Parameter, Blutdruckwerte und die biochemischen Blutparameter zu Baseline für die Gesamtpopulation und vergleichend für die drei Gruppen der jeweiligen Olivenölverzehrreihenfolge wieder. Die drei randomisierten Verzehrgruppen unterschieden sich bezüglich der aufgeführten Parameter zu Baseline nicht signifikant voneinander. Anhand des mittleren BMI konnte die Studienpopulation als normalgewichtig eingestuft werden [312]. Auch der mittlere THQ und Blutdruck sowie die biochemischen Blutparameter befanden sich im Referenzbereich. Lediglich HDL-Cholesterin lag mit 1,32 mmol/l geringfügig unter dem angegebenen Grenzwert. [313]

Tab. 7.1: Charakteristika der Studienpopulation, gesamt und aufgeteilt nach der Verzehrreihenfolge der Olivenöle

Parameter	Verzehrreihenfolge der Olivenöle			Gesamt (n = 70)
	Folge 1 (n = 23)	Folge 2 (n = 25)	Folge 3 (n = 22)	
Alter (Jahre)	33 (31; 36)	35 (33; 37)	31 (29; 33)	33 (32; 34)
Anthropometrie				
Körpergewicht (kg)	76,4 (74,3; 78,7)	77,0 (75,3; 78,7)	75,6 (72,9; 78,3)	76,4 (75,1; 77,6)
Körpergröße (m)	1,91 (1,89; 1,93)	1,90 (1,89; 1,92)	1,88 (1,87; 1,90)	1,90 (1,89; 1,91)
BMI (kg/m ²)	23,3 (22,8; 23,9)	23,8 (23,4; 24,3)	23,9 (23,1; 24,6)	23,7 (23,3; 24,0)
THQ	0,98 (0,97; 0,99)	0,99 (0,98; 1,01)	0,98 (0,97; 0,99)	0,99 (0,98; 0,99)
Blutdruck				
SBD (mmHg)	123 (120; 126)	123 (121; 126)	123 (120; 126)	123 (122; 125)
DBD (mmHg)	79 (77; 80)	78 (77; 80)	78 (77; 80)	78 (78; 79)
Biochemische Blutparameter				
tChol (mmol/l)	4,90 (4,67; 5,14)	4,94 (4,76; 5,12)	4,54 (4,38; 4,70)	4,80 (4,69; 4,91)
HDL-C (mmol/l)	1,32 (1,27; 1,38)	1,32 (1,26; 1,37)	1,40 (1,34; 1,46)	1,34 (1,31; 1,38)
LDL-C (mmol/l)	3,03 (2,92; 3,14)	3,08 (2,97; 3,19)	2,83 (2,71; 2,95)	3,09 (2,99; 3,20)
TG (mmol/l)	0,99 (0,92; 1,06)	0,98 (0,93; 1,04)	1,01 (0,94; 1,09)	0,99 (0,96; 1,03)
Glu (mmol/l)	4,64 (4,56; 4,73)	4,94 (4,82; 5,06)	4,84 (4,73; 4,95)	4,81 (4,75; 4,87)

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); keine signifikanten Gruppenunterschiede mittels einfaktorier ANOVA; BMI - Body Mass Index; THQ - Taille-Hüfte-Quotient; SBD - systolischer Blutdruck; DBD - diastolischer Blutdruck, tChol - Gesamtcholesterin, HDL-C - HDL-Cholesterin, LDL-C - LDL-Cholesterin, TG - Triglyzeride, Glu - Glukose; Verzehrfolge 1: nativ - gemischt - raffiniert; Verzehrfolge 2: gemischt - raffiniert - nativ; Verzehrfolge 3: raffiniert - nativ - gemischt

In der nachfolgenden Tabelle 7.2 sind die soziodemographischen Merkmale und die Familienanamnese der Studienpopulation vergleichend mit den drei randomisierten Verzehrgruppen aufgeführt. An der Studie nahmen vorwiegend ledige (58,6 %) und verheiratete (34,3 %) Männer teil. Fast drei viertel der Probanden gaben als höchsten Ausbildungsgrad eine abgeschlossene Schulausbildung an. Eine abgeschlossene Berufsausbildung hatten 30 % der Befragten. Diabetes mellitus, Hypertonie, Hyperlipidämie und koronare Herzerkrankungen kamen zwischen 21 und 33 % in der familiären Krankengeschichte der Studienteilnehmer vor. Die drei

randomisierten Verzehrgruppen unterschieden sich auch bei diesen Parametern nicht signifikant voneinander.

Tab. 7.2: Soziodemographische Merkmale und Familienanamnese der Studienpopulation, gesamt und aufgeteilt nach der Verzehrreihenfolge der Olivenöle

Parameter	Verzehrreihenfolge der Olivenöle			Gesamt (n = 70)
	Folge 1 (n = 23)	Folge 2 (n = 25)	Folge 3 (n = 22)	
Familienstand				
ledig	60,9	44,0	72,7	58,6
verheiratet	30,4	44,0	27,3	34,3
getrennt lebend/ geschieden	8,7	12,0	0,0	7,1
verwitwet	0,0	0,0	0,0	0,0
Ausbildung				
Studium / Lehre	30,4	32,0	27,3	30,0
Abitur	60,9	36,0	45,5	47,1
Realschulabschluss	8,7	32,0	27,3	22,9
Hauptschulabschluss	0,0	0,0	0,0	0,0
Familienanamnese				
Diabetes mellitus	26,1	32,0	22,7	27,1
Hypertonie	39,1	28,0	31,8	32,9
Hyperlipidämie	30,4	16,7	18,2	21,7
koronare Herzerkrankungen	30,4	20,0	13,6	21,4

Angaben in %; keine signifikanten Gruppenunterschiede mittels exaktem Test nach Fisher; Verzehrfolge 1: nativ - gemischt - raffiniert; Verzehrfolge 2: gemischt - raffiniert - nativ; Verzehrfolge 3: raffiniert - nativ - gemischt

7.3 Olivenölverzehrverhalten

Zum Studienende wurde ein Teil der Probanden (n = 38) zu ihren Verzehrsgewohnheiten bezüglich Olivenöl befragt. Vor Beginn der Studie hatten 84,2 % der Befragten bereits Olivenöl konsumiert. Von diesen verwendete die Mehrheit (93,9 %) Olivenöl im eigenen Haushalt. Nach Ablauf der Interventionsstudie konnten sich insgesamt 89,5 % der Teilnehmer vorstellen, Olivenöl zukünftig für ihren Eigenverbrauch zu kaufen. Deren Kaufentscheidung würde zu 82,4 % auf natives und extra natives Olivenöl und zu 17,6 % auf raffiniertes Olivenöl fallen. Bei der Frage nach der bevorzugten Geschmacksrichtung gaben mehr als ein Drittel (37,2 %) der Probanden einen „milden Olivengeschmack“ an (Abb. 7.2). Zusätzlich wurden die Geschmacksrichtungen „fruchtig“ mit 21,6% und „kräftiger Olivengeschmack“ mit 16,2 % präferiert. Weniger beliebt waren Olivenöle, die als „geschmacksneutral“ (8,1 %), „nussig“ (8,1 %) oder „herb/bitter“ empfunden werden.

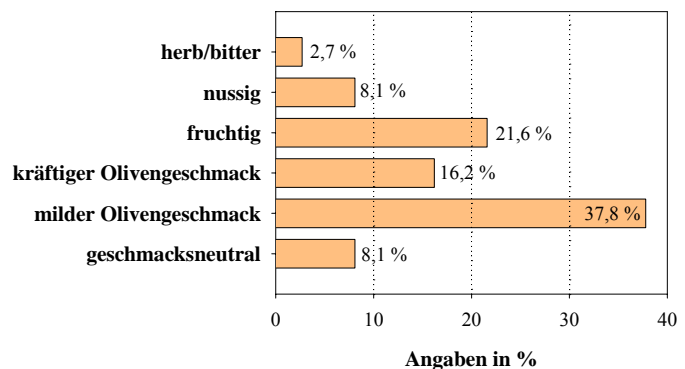


Abb. 7.2: Wichtung der Geschmackskriterien des Olivenöles

7.4 Validierung der Ernährungserhebung anhand einer Subpopulation

Zu den gleichen Erhebungszeitpunkten wie das Ernährungsprotokoll wurde von einer Subpopulation ($n = 38$) ein 7-Tage-Aktivitätsprotokoll geführt. Das prospektive 7-Tage-Aktivitätsprotokoll, welches gegen den Energieverbrauch gemessen mit doppelt stabil markiertem Wasser validiert worden war [291], sollte Aufschluss über die Validität des Ernährungsprotokolls geben. Bis auf wenige fehlende oder doppelte Kreuze, die mit einer festgesetzten MET-Intensität von 1,5 in die Berechnung eingingen (siehe Kapitel 6.5.4.2), wurden die Aktivitätsprotokolle sorgfältig ausgefüllt. Die durchschnittliche Energieaufnahme dieser Subpopulation betrug 2803 ± 692 kcal/d³ und der durchschnittliche Energieverbrauch 3131 ± 634 kcal/d³. Zwischen beiden Parametern wurde eine Korrelation von $r = 0,444$ festgestellt ($p < 0,001$), welche in Abbildung 7.3. illustriert ist. Die durchschnittliche Differenz von Energieaufnahme und -verbrauch entsprach -328 ± 699 kcal³ ($p < 0,001$, Abb. 7.4). Diese negative Differenz lässt auf eine leichte Unterschätzung im Ernährungsprotokoll im Vergleich zum Aktivitätsprotokoll schließen. Das Alter der Probanden hatte keinen signifikanten Einfluss auf die Differenz zwischen Energieaufnahme und Energieverbrauch. Eine negative Assoziation wurde zwischen dem BMI und der Differenz von Energieaufnahme und -verbrauch beobachtet ($r = -0,526$; $p < 0,001$), was auf eine zunehmende Unterschätzung der Ernährungserfassung mit steigendem BMI hinweist.

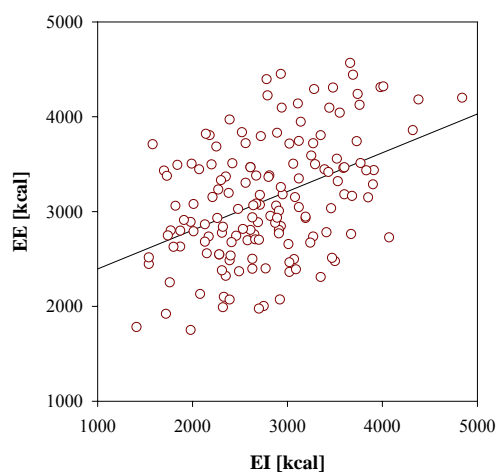


Abb. 7.3: Korrelation zwischen Energieaufnahme (EI) und Energieverbrauch (EE); Korrelationskoeffizient nach Pearson $r = 0,444$; $p < 0,001$

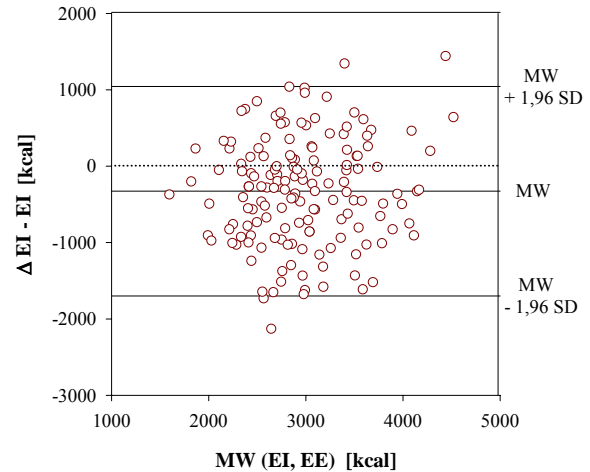


Abb. 7.4: Bland-Altman Plot [314]: Differenz zwischen Energieaufnahme (EI) und Energieverbrauch (EE) aufgetragen gegen den Mittelwert beider Erhebungen; $p < 0,001$ zum Testwert 0

³ Angaben als Mittelwert \pm Standardabweichung

7.5 Ausscheidung phenolischer Marker im Urin und Compliancemesung

Die Messung der phenolischen Verbindungen Tyrosol (T), Hydroxytyrosol (OHT) und 3-O-Methylhydroxytyrosol (MOHT) im 24-h-Urin erfolgte zu Baseline und jeweils zu Beginn und Ende jeder Olivenölverzehrperiode. Die basale Phenolexkretion ermöglicht die Abschätzung der Aufnahme phenolischer Verbindungen über die habituelle Ernährung, wohingegen die Urinanalysen vor und nach Olivenölverzehr die Beurteilung der Compliance der Probanden während der Studie zulässt.

Zu Beginn der Studie unterschieden sich die randomisierten Verzehrgruppen in der renalen Ausscheidung von T und MOHT nicht voneinander (jeweils $p > 0,05$). Nur die Exkretion von OHT in der Gruppe mit der Verzehrreihenfolge 3 (raffiniert - nativ - gemischt) war signifikant geringer als in den beiden anderen randomisierten Gruppen (Folge 1 vs. 2 vs. 3: 91,0 [71,6; 115,7] vs. 93,6 [75,9; 115,5] vs. 44,6 [39,1; 51,0] $\mu\text{g}/24\text{-h-Urin}$, $p = 0,025$).

Die basale Exkretion für T, OHT und MOHT betrug jeweils 58,7 (51,4; 67,0); 74,6 (65,9; 84,4) und 14,8 (13,0; 16,8) $\mu\text{g}/24\text{-h-Urin}$. Mit zunehmendem Gehalt an phenolischen Verbindungen im Olivenöl stieg die Ausscheidungsrate von T, OHT und MOHT über den Urin signifikant an ($p_{\text{Trend}} < 0,001$; Abb. 7.5). Nach dem Verzehr des annähernd phenolfreien raffinierten Olivenöles zeigte sich bei der renalen Exkretion von T, OHT und MOHT im Vergleich zum Beginn des dreiwöchigen Verzehrs keine Veränderung ($p > 0,05^4$). Durch den Konsum des gemischten Olivenöles mit mittlerem Phenolgehalt erhöhte sich die Ausscheidung von T und MOHT um das 2½-fache ($p < 0,001^4$) und um das 4½-fache die OHT-Exkretion ($p < 0,001^4$). Auch nach dem Verzehr des phenolreichen nativen Olivenöles konnte ein signifikanter Anstieg der renalen Ausscheidung der phenolischen Marker T, OHT und MOHT (jeweils $p < 0,001^4$) nachgewiesen werden. Bei T und MOHT handelte es sich um eine 5-fache und bei OHT um eine 8½-fache Erhöhung. Anhand der unteren und oberen Grenze des Standardfehlers des Mittelwertes ist eine große interindividuelle Schwankungsbreite bei der renalen Exkretion der phenolischen Marker ersichtlich. Eine detaillierte Auflistung aller Messwerte findet sich in der Tabelle 11.1 im Anhang 11.6.

⁴ mittels Student's t-Test für gepaarte Stichproben

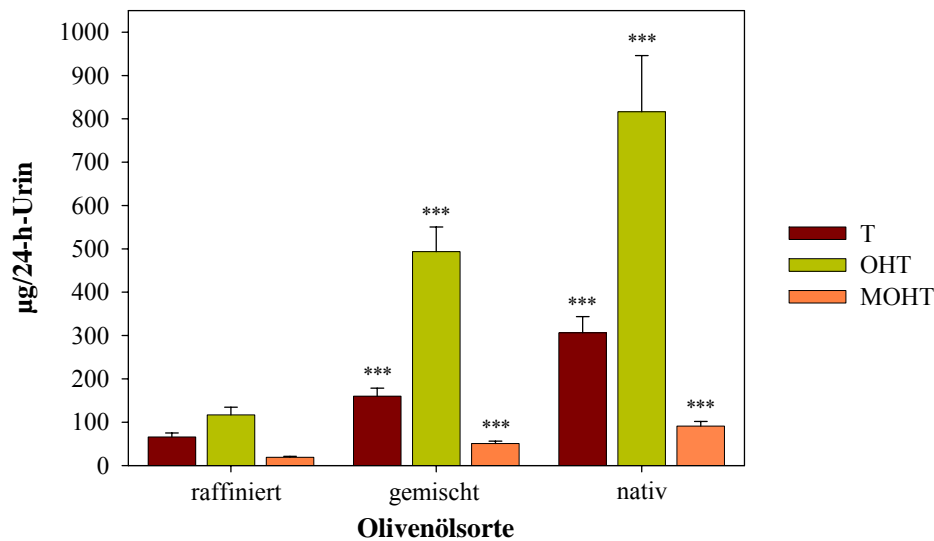


Abb. 7.5: Absolute Veränderungen der renalen Exkretion der phenolischen Marker Tyrosol (T), Hydroxytyrosol (OHT), 3-O-Methylhydroxytyrosol (MOHT) nach Verzehr von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl;

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM; Test auf signifikanten Trend mittels gemischtem linearem Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Olivenölsorte als fester Faktor sowie Probandennummer als zufälliger Faktor, $***p_{Trend} < 0,001$

7.6 Anthropometrische Daten und Gelegenheitsblutdruckmessung

Interventionseffekt

Bei der Analyse des Interventionseffektes wurde überprüft, ob sich in der Gesamtpopulation ($n = 70$) im Verlauf der Studiendurchführung die erhobenen Parameter unabhängig von der Art des verabreichten Olivenöles veränderten. Grundlage für die Ermittlung einer tendenziellen Veränderung über den Studienverlauf hinweg war der Vergleich der Differenzen der Erhebungszeitpunkte in chronologischer Reihenfolge (t_1 bis t_6) zu Baseline (t_0) (vgl. Abb. 6.1 in Kapitel 6.3). Zur Vervollständigung der nachfolgenden Ausführungen sind in der Tabelle 11.2 im Anhang 11.6 alle Messwerte aufgelistet.

Die anthropometrischen Werte Gewicht und BMI zeigten von Beginn bis Ende der Studie keine Veränderung. Dagegen wurde beim Gelegenheitsblutdruck eine tendenziell signifikante Erniedrigung über den Studienverlauf eruiert. So sank der systolische Blutdruck von 123 (122; 125) auf 119 (117; 121) mmHg ($p_{Trend} < 0,001$) und der diastolische Blutdruck von 78 (78; 79) auf 76 (75; 76) mmHg ($p_{Trend} < 0,001$).

Olivenöleffekt

Der Olivenöleffekt gibt wider, inwieweit sich durch den Verzehr von Olivenöl, unabhängig vom Gehalt an phenolischen Verbindungen, bei den zu untersuchenden Parametern Unterschiede im Vergleich zum Nicht-Verzehr aufzeigen lassen. Für die Analyse wurde die Veränderung in der Run in-Phase ($\Delta_{t1 - t0}$), als Nicht-Olivenölverzehrperiode, mit der Veränderung der Verzehrphase des annähernd phenolfreien raffinierten Olivenöles verglichen.

Der Vergleich der Differenzen von Beginn und Ende der Verzehrperioden mit und ohne Olivenöl zeigte bei den anthropometrischen Parametern Gewicht und BMI sowie bei der Gelegenheitsblutdruckmessung keinen signifikanten Unterschied. Die Ausgangs- und Endwerte beider Verzehrphasen der jeweiligen Parameter sind in der Tabelle 7.3 zusammengefasst.

Tab. 7.3: Gewicht, Body Mass Index und Gelegenheitsblutdruck zu Beginn und Ende der Verzehrphasen mit und ohne Olivenöl

Parameter	kein Olivenöl		Olivenöl		p
	pre	post	pre	post	
Gewicht (kg)	76,4 (75,1; 77,6)	76,6 (75,4; 77,9)	76,8 (75,5; 78,0)	76,6 (75,4; 77,9)	0,153
BMI (kg/m ²)	23,7 (23,3; 24,0)	23,7 (23,4; 24,1)	23,8 (23,5; 24,1)	23,8 (23,4; 24,1)	0,150
SBD (mmHg)	123 (122; 125)	122 (120; 123)	121 (119; 123)	120 (118; 122)	0,962
DBD (mmHg)	78 (78; 79)	78 (78; 79)	77 (76; 78)	76 (76; 77)	0,666

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikante Gruppenunterschiede mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Treatment als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; BMI - Body Mass Index, SBP - systolischer Blutdruck, DBP - diastolischer Blutdruck

Phenoleffekt

Die folgende Auswertung untersuchte den Einfluss der phenolischen Komponenten aus dem Olivenöl auf die ausgewählten Parameter. Grundlage dieser Analyse war der Vergleich der Differenzen zwischen Beginn und Ende der Verzehrperioden mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl. In Abhängigkeit vom Phenolgehalt der Olivenöle wurde ein p_{Trend} ermittelt.

In den drei Olivenölverzehrperioden gab es keine signifikante Veränderung des Körpergewichtes, des BMI sowie der Werte der Gelegenheitsblutdruckmessung in Abhängigkeit vom Gehalt an phenolischen Verbindungen. Die nachfolgende Tabelle 7.4 gibt einen detaillierten Überblick über die Anfangs- und Endmesswerte der drei Olivenölinterventionsperioden.

Tab. 7.4: Gewicht, Body Mass Index und Gelegenheitsblutdruck zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl

Parameter	Raffiniert		Gemischt		Nativ		PTrend
	pre	post	pre	post	pre	post	
Gewicht (kg)	76,8 (75,5; 78,0)	76,6 (75,4; 77,9)	76,7 (75,5; 78,0)	77,0 (75,6; 78,3)	76,8 (75,6; 78,1)	76,7 (75,5; 78,0)	0,854
BMI (kg/m ²)	23,8 (23,5; 24,1)	23,8 (23,4; 24,1)	23,8 (23,5; 24,1)	23,9 (23,6; 24,2)	23,8 (23,5; 24,1)	23,6 (23,5; 24,1)	0,855
SBD (mmHg)	121 (119; 123)	120 (118; 122)	120 (119; 122)	121 (119; 122)	121 (119; 122)	120 (118; 122)	0,642
DBD (mmHg)	77 (76; 78)	76 (76; 77)	77 (76; 78)	77 (76; 77)	77 (76; 78)	76 (75; 77)	0,887

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikanten Trend bzgl. der Phenolkonzentration der Olivenöle mittels gemischtem linearem Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Olivenölsorte als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; BMI - Body Mass Index; SBD - systolischer Blutdruck; DBD - diastolischer Blutdruck

7.7 Energie- und Nährstoffaufnahme

Interventionseffekt

Die Auswertung des Ernährungsverhaltens über den Studienverlauf hinweg basierte auf dem Vergleich der Differenzen der vier Erhebungszeitpunkte in chronologischer Reihenfolge (t₂, t₄, t₆) zu Baseline (t₀). Eine Zusammenstellung aller Messwerte in chronologischer Reihenfolge ist im Anhang 11.6 in der Tabelle 11.3 gegeben.

Die Energiezufuhr blieb über die vier Erhebungszeitpunkte weitestgehend konstant. Ebenfalls konnte bei der Aufnahme der Hauptnährstoffe Kohlenhydrate, Fett und Protein keine Veränderung beobachtet werden. Dabei machten die Kohlenhydrate den größten Anteil der Hauptnährstoffe aus (Abb. 7.6).

Die Zufuhr von gesättigten Fettsäuren (SFA), einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA), mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) und Ölsäure bezogen auf den Gesamtfettverzehr in chronologischer Reihenfolge ist in Abbildung 7.7 zu sehen. Diese lässt deutlich die Verschiebung der Anteile zwischen SFA und MUFA in der Ernährung zu Baseline (t₀) und in den drei Olivenölverzehrperioden erkennen (t₂, t₄, t₆). Die Zufuhr von SFA als dominierende Fettsäure zu Baseline sank im Verlauf der Studie ($p_{\text{Trend}} = 0,006$). Dagegen überwog in den Interventionswochen mit Olivenölverzehr der Anteil von MUFA in der Gesamtfettzufuhr ($p_{\text{Trend}} = 0,027$). Bei der PUFA-Aufnahme über die Nahrung wurde im Studienverlauf keine Veränderung eruiert. Die Ölsäurezufuhr als dominierende MUFA im Olivenöl verhielt sich analog der Gesamt-MUFA-Aufnahme, wobei diese keinen signifikanten Trend im Studienverlauf aufwies.

Beim Cholesterin sowie den Vitaminen A, C, B₁₂ und Folsäure konnten keine Zufuhrveränderungen während der Studie dokumentiert werden. Ausschließlich Vitamine E und B₆

verzeichneten vom Zeitpunkt t0 bis t6 eine signifikante Zunahme (jeweils $p_{Trend} = 0,007$; $p_{Trend} = 0,021$).

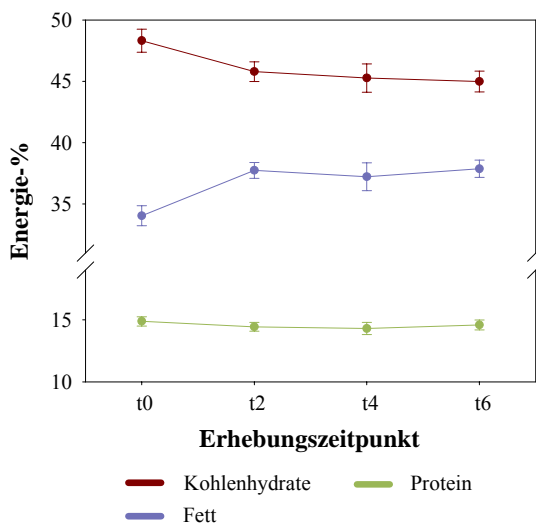


Abb. 7.6: Zufuhr von Kohlenhydraten, Fett und Protein im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert \pm SEM; Test auf signifikanten Trend mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert und Alter als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Zeit als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; $p_{Trend} > 0,05$

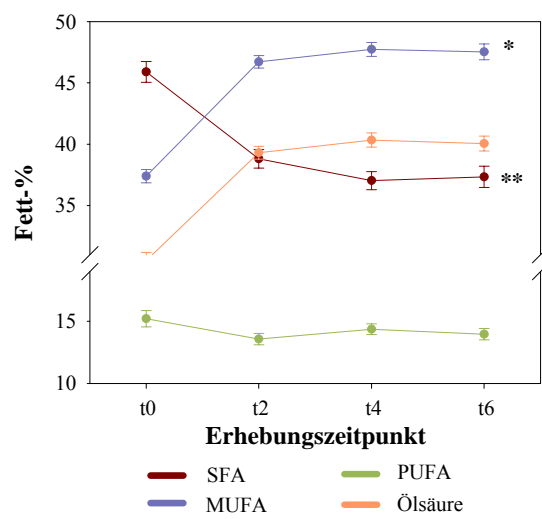


Abb. 7.7: Zufuhr von SFA, MUFA, PUFA und Ölsäure im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert \pm SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Abb. 7.6 beschrieben; ** $p < 0,01$; * $p < 0,05$

Beim Ernährungsverhalten bzw. der Energie- und Nährstoffzufuhr der Probanden ist zu Baseline zwischen den randomisierten Gruppen der drei Verzehrreihenfolgen kein signifikanter Unterschied zu beobachten ($p > 0,05^5$).

Olivenöleffekt

Aufgrund der nur viermaligen Erhebungszeitpunkte der Ernährung erfolgte die Ermittlung des Olivenöleinflusses nicht basierend auf den Differenzen, so wie das für die anthropometrischen Parameter, Gelegenheitsblutdruck, Lipidperoxidation und endogene Antioxidantien gilt, sondern auf den Absolutwerten zu Baseline (t0) und nach Verzehr des raffinierten Olivenöles. Eine vollständige Aufstellung aller nachfolgend beschriebenen Daten ist in der Tabelle 11.4 im Anhang 11.6 einzusehen.

In den zwei Verzehrperioden ohne und mit Olivenöl unterschied sich die Energiezufuhr nicht signifikant voneinander (Abb. 7.8). Die Fettaufnahme war im Zeitraum ohne Olivenölkonsum geringer als in der Phase mit raffiniertem Olivenöl ($p = 0,004$). Im Gegensatz dazu war die Zufuhr

⁵ mittels einfaktorieller ANOVA

an Kohlenhydraten und Proteinen in der Periode ohne Olivenölverzehr höher ($p = 0,032$ und $p = 0,026$). Im Kontrollzeitraum machte SFA den dominierenden Anteil an der Gesamtfetzzufuhr aus, wohingegen MUFA in der Olivenölverzehrperiode den größten Anteil einnahm (Abb. 7.9). Die Zufuhr von SFA war zum Kontrollzeitpunkt (t0) mit 45,9 (45,1; 46,8) Fett-% signifikant höher als in der Periode mit Olivenölkonsum (37,8 [37,0; 38,6] Fett-%; $p < 0,001$). Im Gegensatz dazu war die MUFA-Zufuhr in der Verzehrsperiode ohne Olivenöl signifikant niedriger als in der Phase mit Olivenöl (ohne vs. mit: 37,4 (36,9; 37,9) vs. 47,2 (46,6; 47,9) Fett-%; $p < 0,001$). Dies konnte ebenfalls bei der Ölsäure beobachtet werden (ohne vs. mit: 30,7 (29,6; 31,9) vs. 39,7 (39,1; 40,4) Fett-%; $p < 0,001$). Der Anteil von PUFA am Gesamtfettverzehr erwies sich als unabhängig vom Olivenölkonsum.

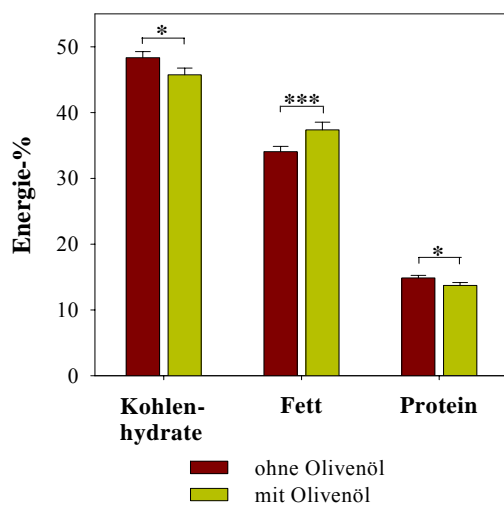


Abb. 7.8: Aufnahme von Kohlenhydraten, Fett und Protein in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr; Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM; Test auf signifikante Gruppenunterschiede mittels gemischtem linearem Modell mit Alter als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Treatment als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$

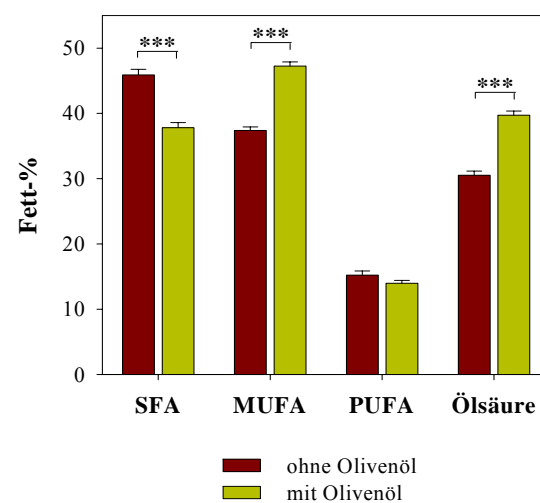


Abb. 7.9: Aufnahme von SFA, MUFA, PUFA und Ölsäure in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr; Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM; Test auf signifikante Gruppenunterschiede wie in Abb. 7.8 beschrieben; *** $p < 0,001$

Beim Cholesterin zeigte sich nach raffiniertem Olivenölkonsum eine niedrigere Aufnahme als in der Phase ohne Olivenölkonsum (ohne vs. mit: 322 [303; 342] vs. 279 [261; 298] mg; $p = 0,032$). Die Vitaminszufuhr wurde nicht maßgeblich vom Olivenölverzehr beeinflusst. Lediglich die Aufnahme von Vitamin E ist in der Periode mit raffiniertem Olivenölkonsum höher als in dem Verzehrszeitraum, in dem kein Olivenöl gegessen wurde (ohne vs. mit: 9,4 [8,9; 9,9] vs. 11,6 [11,1; 12,1] mg; $p < 0,001$).

Phenoleffekt

Die Ermittlung des Einflusses der phenolischen Komponenten basiert auf dem Vergleich der Differenzen zwischen Baseline (t0) und den Erhebungszeitpunkten am Ende des raffinierten, gemischten und nativen Olivenölverzehrs. In Abhängigkeit vom Phenolgehalt der Olivenöle wurde ein p_{Trend} ermittelt.

Wie aus der Tabelle 7.5 deutlich wird, war die Energieaufnahme der Probanden in den drei Interventionsphasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl nicht signifikant verschieden. Ebenso zeigte sich bei der Kohlenhydrat- und Fettzufuhr zwischen den Interventionsphasen keine Veränderung. Jedoch variiert die Energiezufuhr über die Proteine signifikant zwischen den Verzehrzeiträumen ($p_{Trend} = 0,036$; Abb. 7.10). Die Fettsäurekomposition in der Ernährung wies keine Veränderung in Abhängigkeit vom Phenolgehalt der verzehrten Olivenöle auf. Die Aufnahme von Ölsäure war zu Baseline geringer als in den Interventionsperioden. Es zeigte sich allerdings kein Zusammenhang zum Phenolgehalt der verzehrten Öle. Eine Gegenüberstellung der absoluten Veränderungen der Fettsäure bzw. -gruppen zu Baseline nach raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenölverzehr illustriert Abbildung 7.11. Die Aufnahme von Cholesterin sowie der Vitamine C, A, B₆, B₁₂ und Folsäure blieb in den drei Olivenölinterventionen konstant. Nur beim Vitamin E ließ sich ein Zusammenhang zum Gehalt an phenolischen Verbindungen im Olivenöl beobachten ($p_{Trend} = 0,041$).

Tab. 7.5: Energie- und Nährstoffaufnahme zu Baseline und am Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl

Parameter	Baseline	Raffiniert	Gemischt	Nativ	p_{Trend}
Energie (MJ)	10,4 (10,1; 10,8)	10,8 (10,4; 11,2)	10,4 (10,0; 10,8)	10,3 (10,0; 10,7)	0,287
Kohlenhydrate (Energie-%)	48,3 (47,4; 49,3)	45,7 (44,7; 46,8)	44,4 (43,5; 45,3)	46,0 (45,1; 46,8)	0,799
Proteine (Energie-%)	14,9 (14,5; 15,2)	13,7 (13,3; 14,2)	14,9 (14,5; 15,3)	14,7 (14,3; 15,1)	0,036
Fett (Energie-%)	34,0 (33,2; 34,9)	37,4 (36,2; 38,5)	38,4 (37,8; 39,1)	37,1 (36,4; 37,7)	0,751
SFA (Fett-%)	45,9 (45,1; 46,8)	37,8 (37,0; 38,6)	37,4 (36,6; 38,2)	38,0 (37,3; 38,8)	0,709
MUFA (Fett-%)	37,4 (36,9; 37,9)	47,2 (46,6; 47,9)	47,5 (47,0; 48,0)	47,2 (46,7; 47,8)	0,884
PUFA (Fett-%)	15,2 (14,6; 15,9)	14,0 (13,6; 14,4)	14,0 (13,5; 14,5)	13,9 (13,5; 14,3)	0,772
Ölsäure (Fett-%)	30,7 (29,6; 31,9)	39,7 (39,1; 40,4)	40,2 (39,7; 40,7)	39,8 (39,3; 40,3)	0,193
Cholesterin (mg)	322 (303; 342)	279 (261; 298)	302 (286; 323)	301 (284; 319)	0,199
Vit. C (mg)	95,4 (87,8; 104)	95,4 (87,8; 104)	94,8 (87,2; 103)	90,2 (83,0; 98,0)	0,598
Vit. E (mg)	9,4 (8,9; 9,9)	11,6 (11,1; 12,1)	11,4 (10,9; 12,0)	10,5 (10,1; 11,0)	0,041
Vit. A (mg)	1,29 (1,22; 1,36)	1,21 (1,13; 1,29)	1,22 (1,13; 1,32)	1,22 (1,14; 1,32)	0,697
Folsäure (µg)	238 (227; 250)	241 (230; 252)	238 (225; 251)	248 (235; 262)	0,381
Vit. B ₆ (mg)	1,81 (1,73; 1,89)	1,75 (1,68; 1,82)	1,84 (1,76; 1,92)	1,80 (1,73; 1,87)	0,307
Vit. B ₁₂ (mg)	3,75 (3,41; 4,12)	3,42 (3,05; 4,84)	3,84 (3,44; 4,28)	3,83 (3,47; 4,23)	0,274

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikanten Trend bzgl. der Phenolkonzentration der Olivenöle mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert und Alter als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Olivenölsorte als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; SFA - gesättigte Fettsäuren, MUFA - einfach ungesättigte Fettsäuren, PUFA - mehrfach ungesättigte Fettsäuren, Vit. - Vitamin

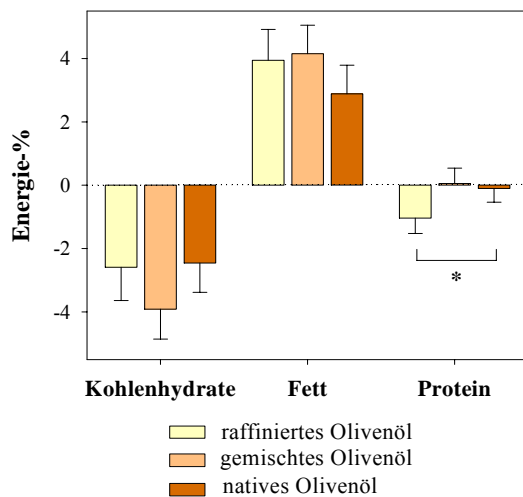


Abb. 7.10: Absolute Veränderungen der Aufnahme von Kohlenhydraten, Fett und Protein in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl; Angaben als Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend bzgl. der Phenolkonzentration wie in Tab. 7.5 beschrieben; * $p_{Trend} < 0,05$

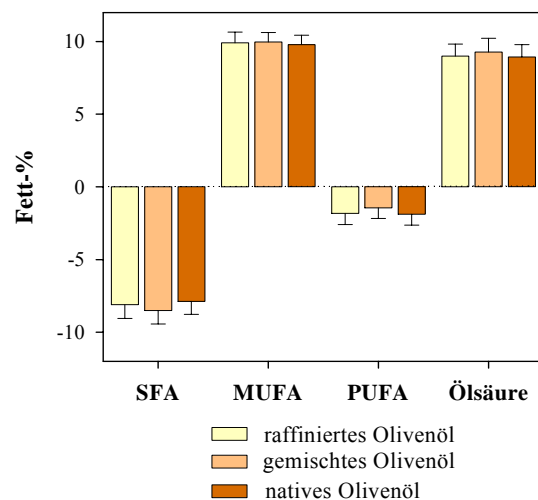


Abb. 7.11: Absolute Veränderungen der Aufnahme von SFA, MUFA, PUFA und Ölsäure in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl; Angaben als Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend bzgl. der Phenolkonzentration wie in Tab. 7.5 beschrieben; $p_{Trend} > 0,05$

7.8 Blutlipide

Interventionseffekt

Für die Analyse des Interventionseffektes, der eine Aussage über die Veränderungen der Blutlipide im Studienverlauf unabhängig von der verzehrten Olivenölsorte zulässt, wurden die Differenzen der Erhebungszeitpunkte t1 bis t6 zu Baseline (t0) verglichen. Gleiches gilt für die Berechnung des Interventionseffektes aller nachfolgend beschriebenen Blutparameter. Die Serumkonzentration von Gesamtcholesterin (tChol), LDL-Cholesterin (LDL-C) und Triglyzerid (TG) blieben im Studienverlauf weitestgehend konstant. Eine tendenzielle Erhöhung vom Zeitpunkt t0 bis t6 konnte ausschließlich beim HDL-Cholesterin (HDL-C) festgestellt werden ($p = 0,011$). Die basale Serumkonzentration von HDL-C betrug

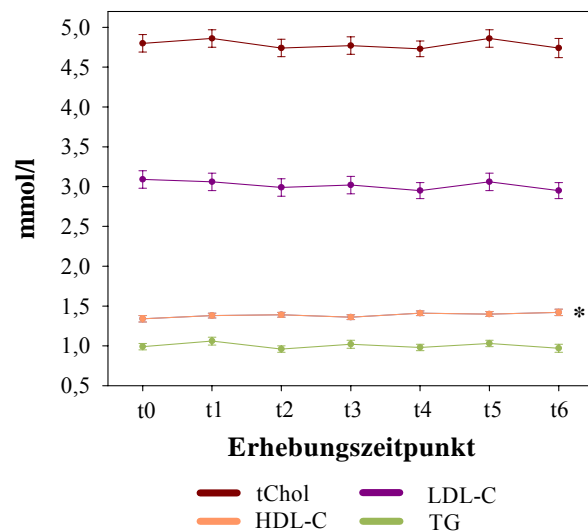


Abb. 7.12: Blutkonzentrationen von Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeriden im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend mittels gemischtem linearem Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Zeit als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; * $p_{Trend} < 0,05$

1,34 (1,31; 1,38) mmol/l und nahm während der Studie auf 1,42 (1,39; 1,46) mmol/l zu. Die nebenstehende Abbildung 7.12 stellt die beschriebenen Serumkonzentrationen der Lipidparameter in chronologischer Reihenfolge dar. Zur Vervollständigung der Ausführungen sind alle Messwert in der Tabelle 11.2 im Anhang 11.6 zusammengefasst.

Olivenöleffekt

Der Einfluss des Olivenölverzehr unabhängig vom Gehalt an phenolischen Verbindungen wurde wie im Kapitel 7.6 angegeben ermittelt.

Einen Überblick über die Lipidkonzentrationen im Serum zu Beginn und Ende der Verzehrsphasen mit und ohne Olivenölkonsum gibt die Tabelle 7.6, wohingegen die nachfolgende Abbildung 7.13 die absoluten Veränderungen in den Untersuchungszeiträumen für diese Parameter veranschaulicht. In beiden zeigt sich beim tChol in den Kontrollwochen eine Erhöhung von $0,06 \pm 0,05$ mmol/l. Im Vergleich dazu war nach raffiniertem Olivenölkonsum ein niedrigerer tChol-Serumspiegel von $0,09 \pm 0,04$ mmol/l zu beobachten, was einer Reduktion von 4 % entspricht ($p = 0,029$). Beim HDL-C und LDL-C konnten die Veränderungen zwischen Olivenöl- und Nicht-Olivenölverzehr als nicht signifikant eruiert werden. Die TG-Konzentration erhöhte sich im Zeitraum ohne

Olivenölverzehr geringfügig um $0,10 \pm 0,05$ mmol/l und fiel um $0,08 \pm 0,02$ mmol/l nach mehrwöchigem Konsum von annähernd phenolfreiem Olivenöl ($p = 0,012$). Die Reduktion in der Olivenölintervention betrug 10 %.

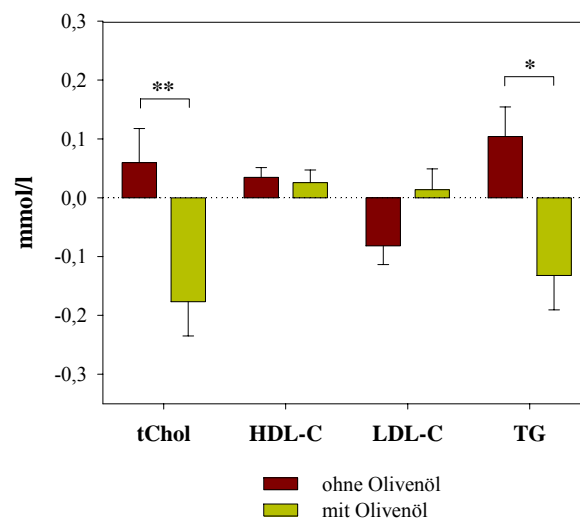


Abb. 7.13: Absolute Veränderungen von Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeriden im Serum in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr;

Angaben als Mittelwert und SEM; Test auf signifikante Gruppenunterschiede mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Treatment als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$

Tab. 7.6: Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride zu Beginn und Ende der Verzehrsphasen mit und ohne Olivenöl

Parameter	kein Olivenöl		Olivenöl		P
	pre	post	pre	post	
tChol (mmol/l)	4,80 (4,69; 4,91)	4,86 (4,75; 4,97)	4,86 (4,74; 4,97)	4,68 (4,57; 4,79)	0,007
HDL-C (mmol/l)	1,34 (1,31; 1,38)	1,38 (1,35; 1,41)	1,37 (1,33; 1,40)	1,39 (1,36; 1,43)	0,779
LDL-C (mmol/l)	3,09 (2,99; 3,20)	3,06 (2,96; 3,17)	3,08 (2,97; 3,18)	2,93 (2,82; 3,04)	0,122
TG (mmol/l)	0,99 (0,96; 1,03)	1,06 (1,01; 1,11)	1,06 (1,01; 1,11)	0,95 (0,91; 0,99)	0,013

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikante Gruppenunterschiede mittels gemischtem linearem Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Treatment als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufällige Faktoren; tChol - Gesamtcholesterin; HDL-C - HDL-Cholesterin; LDL-C - LDL-Cholesterin; TG - Triglyzeride

Phenoleffekt

Die Analyse des Phenoleffektes untersucht den Einfluss der phenolischen Komponenten aus dem Olivenöl auf die Blutlipide basierend auf dem Vergleich der Veränderungen zwischen Beginn und Ende des Konsums von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl. Gleiches gilt für die Berechnung des Phenoleffektes aller nachfolgend beschriebenen Blutparameter.

Die Anfangs- und Endwerte der Serumlipide der Interventionsperioden mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenölverzehr sind in Tabelle 7.7 aufgeführt und die absoluten Veränderungen in der Abbildung 7.14 veranschaulicht. Beim Vergleich der Differenzen der Serumkonzentrationen von tChol, HDL-C, LDL-C und TG konnte keine

signifikante Veränderung in Abhängigkeit vom Phenolgehalt der Olivenöle nachgewiesen werden.

Die beschriebenen Ergebnisse bzgl. des Olivenöl- und Phenoleffektes sind für die gestiegene Fettaufnahme der Probanden in den Interventionsperioden mit Olivenölkonsum adjustiert. Eine Berechnung ohne Adjustierung der erhöhten Fettaufnahme ergab konsistente Ergebnisse und hatte somit keinen Einfluss auf die ermittelten p-Werte.

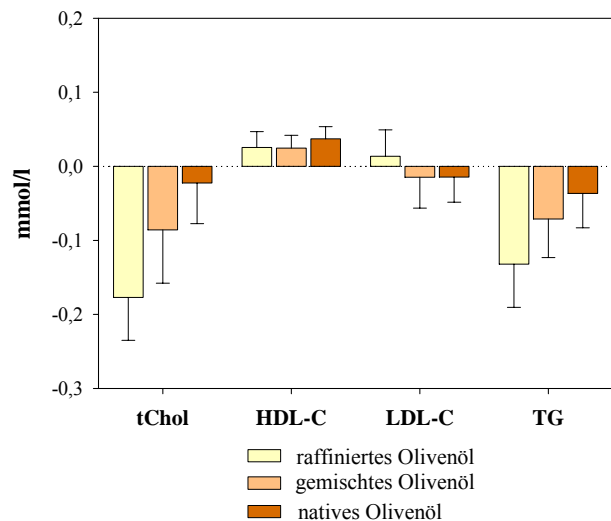


Abb. 7.14: Absolute Veränderungen von Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeriden im Blut in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenölverzehr;

Angaben als Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Tab. 7.7 beschrieben; $p_{Trend} > 0,05$

Tab. 7.7: Gesamtcholesterin, HDL- und LDL-Cholesterin sowie Triglyzeride zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl

Parameter	Raffiniert		Gemischt		Nativ		PTrend
	pre	post	pre	post	pre	post	
tChol (mmol/l)	4,86 (4,74; 4,97)	4,68 (4,57; 4,79)	4,80 (4,69; 4,91)	4,71 (4,60; 4,82)	4,83 (4,72; 4,92)	4,82 (4,72; 4,92)	0,055
HDL-C (mmol/l)	1,37 (1,33; 1,40)	1,39 (1,36; 1,43)	1,38 (1,35; 1,41)	1,40 (1,37; 1,43)	1,40 (1,37; 1,43)	1,43 (1,40; 1,46)	0,358
LDL-C (mmol/l)	3,08 (2,97; 3,18)	2,93 (2,82; 3,04)	3,01 (2,91; 3,12)	2,94 (2,84; 3,04)	3,06 (2,95; 3,17)	3,02 (2,92; 3,12)	0,131
TG (mmol/l)	1,06 (1,01; 1,11)	0,95 (0,91; 0,99)	1,05 (1,00; 1,10)	0,98 (0,94; 1,03)	1,00 (0,96; 1,05)	0,98 (0,94; 1,02)	0,380

Angaben als geometrischer MW und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikanten Trend bzgl. der Phenolkonzentration der Olivenöle mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Olivenölsorte als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufällige Faktoren; tChol - Gesamtcholesterin; HDL-C - HDL-Cholesterin; LDL-C - LDL-Cholesterin; TG - Triglyzeride

7.9 Marker der Lipidperoxidation

Interventionseffekt

Die Blutkonzentrationen der Lipidperoxidationsmarker von Beginn bis Ende der Studie werden in den Abbildungen 7.15 bis 7.17 veranschaulicht. Ergänzend sind in der Tabelle 11.2 im Anhang 11.6 die Messwerte von jedem Erhebungszeitpunkt aufgeführt.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass oxidiertes LDL (oxLDL), oxidierte LDL-Antikörper (OLAB), konjugierte Diene (CD) und Hydroxyfettsäuren (OHFA) keine signifikant tendenzielle Veränderung im Verlauf der Studiendurchführung aufwiesen. Lediglich bei den F₂-Isoprostanen (F₂-Isop) im Plasma wurde eine signifikante Absenkung von 29,6 (28,8; 30,4) ng/l zu Baseline auf 27,0 (26,3; 27,6) ng/l (p_{Trend} = 0,015) bei der letzten Blutabnahme ermittelt.

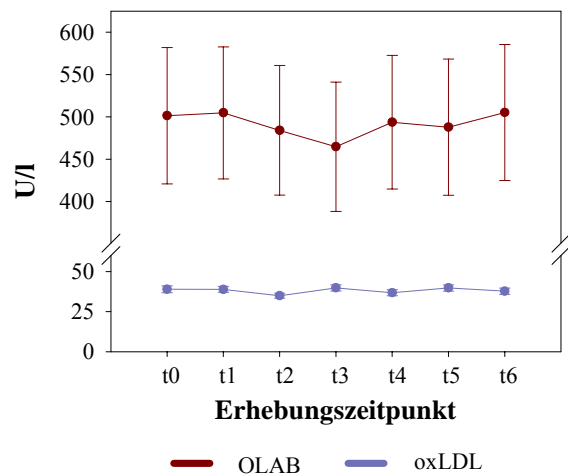


Abb. 7.15: Blutkonzentrationen von oxLDL und OLAB im Studienverlauf;

Angaben als geometrischer Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Zeit als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; p_{Trend} > 0,05

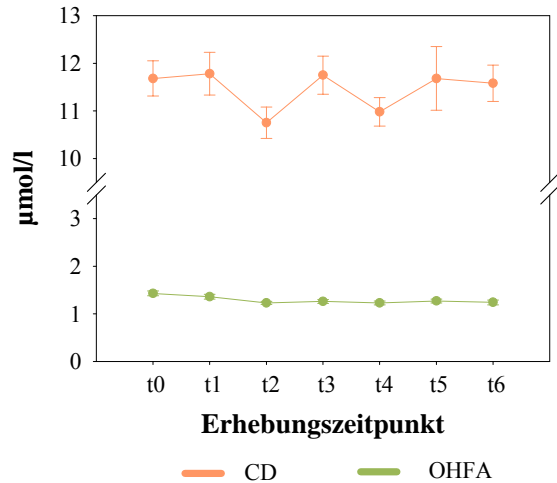


Abb. 7.16: Blutkonzentrationen CD und OHFA im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Abb. 7.15 beschrieben; $p_{Trend} > 0,05$

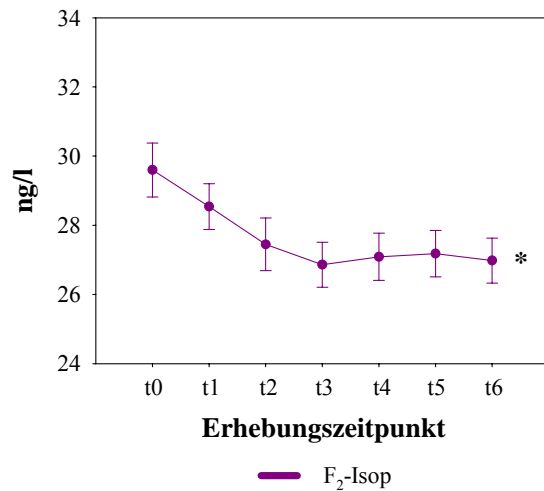


Abb. 7.17: Blutkonzentration von F₂-Isop im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Abb. 7.15 beschrieben; * $p_{Trend} < 0,05$

Olivenöleffekt

Der Blick auf die Tabelle 7.8 lässt erkennen, dass die ausgewählten Marker der Lipidperoxidation OLAB, oxLDL, CD, OHFA und F₂-Isop durch die mehrwöchige Intervention mit raffiniertem Olivenöl nicht signifikant beeinflusst wurden. Die absoluten Veränderungen in den Studienphasen mit und ohne Olivenölverzehr werden in der Abbildung 7.18 A - C grafisch veranschaulicht.

Tab. 7.8: Marker der Lipidperoxidation zu Beginn und Ende der Verzehrsphasen mit und ohne Olivenöl

Parameter	kein Olivenöl		Olivenöl		p
	pre	post	pre	post	
OLAB (U/l)	501 (432; 582)	505 (437; 583)	504 (438; 581)	489 (422; 567)	0,418
oxLDL (U/l)	38,9 (36,9; 41,0)	38,9 (37,1; 40,7)	38,9 (37,2; 40,7)	36,1 (34,2; 38,1)	0,251
CD (µmol/l)	11,7 (11,3; 12,1)	11,8 (11,3; 12,2)	11,6 (11,2; 12,0)	11,3 (10,9; 11,7)	0,609
OHFA (µmol/l)	1,43 (1,39; 1,48)	1,36 (1,31; 1,41)	1,32 (1,28; 1,36)	1,22 (1,18; 1,25)	0,663
F ₂ -Isop (ng/l)	29,6 (28,8; 30,4)	28,5 (27,9; 29,2)	27,5 (26,9; 28,1)	26,8 (26,1; 27,5)	0,888

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikante Gruppenunterschiede mittels gemischtem linearem Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Treatment als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; OLAB - oxidiertes LDL-Antikörper, oxLDL - oxidiertes LDL, CD - konjugierte Diene, OHFA - Hydroxyfettsäuren, F₂-Isop - F₂-Isoprostane

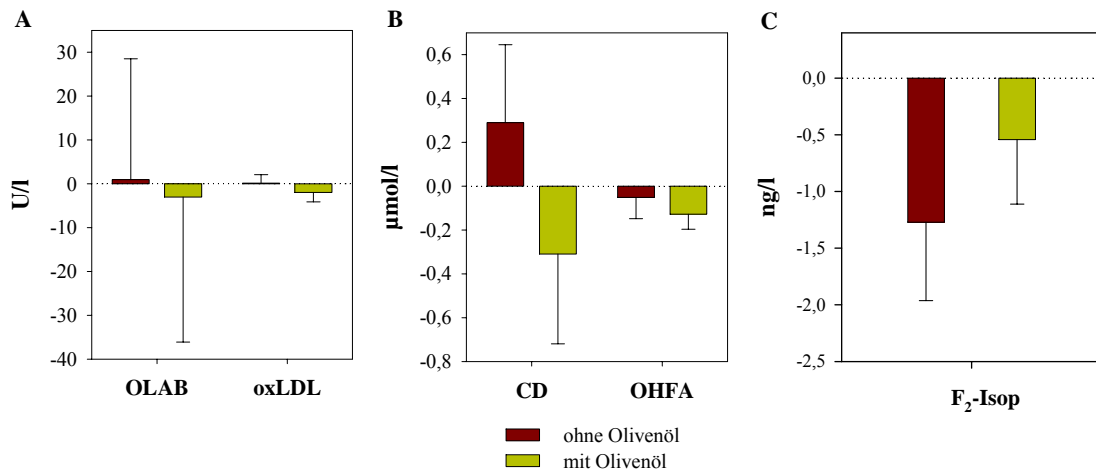


Abb. 7.18: Absolute Veränderungen der Lipidperoxidationsmarker (A: OLAB und oxLDL; B: CD und OHFA; C: F₂-Isop) im Blut in den Phasen ohne und mit Olivenölverzehr; Angaben als Mittelwert ± SEM; Test auf signifikante Gruppenunterschiede wie in Tab. 7.8 beschrieben; p > 0,05

Phenoleffekt

Die Blutwerte der Lipidperoxidationsmarker vor und nach Verzehr von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl sind in der Tabelle 7.9 zusammengefasst. Daraus lässt sich entnehmen, dass der Phenolgehalt der verabreichten Olivenöle keinen signifikanten Einfluss auf die gemessenen Parameter der Lipidperoxidation oxLDL, OLAB, CD, OHFA und F₂-Isop ausübte. Die Abbildung 7.19 A bis C gibt einen Überblick über die Differenzen von Beginn und Ende der Intervention mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl für die beschriebenen Biomarker.

Tab. 7.9: Marker der Lipidperoxidation zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl

Parameter	Raffiniert		Gemischt		Nativ		P _{Trend}
	pre	post	pre	post	pre	post	
OLAB (U/l)	504 (438; 581)	489 (422; 567)	477 (411; 553)	511 (441; 592)	476 (407; 557)	483 (416; 561)	0,467
oxLDL (U/l)	38,9 (37,2; 40,7)	36,1 (34,2; 38,1)	38,6 (36,7; 40,5)	36,9 (35,9; 38,8)	40,9 (39,1; 42,8)	36,2 (34,7; 37,8)	0,496
CD (µmol/l)	11,6 (11,2; 12,0)	11,3 (10,9; 11,7)	12,2 (11,8; 12,7)	10,9 (10,6; 11,2)	11,4 (11,0; 11,8)	11,1 (10,8; 11,4)	0,618
OHFA (µmol/l)	1,32 (1,28; 1,36)	1,22 (1,18; 1,25)	1,30 (1,26; 1,34)	1,28 (1,23; 1,33)	1,26 (1,21; 1,31)	1,21 (1,18; 1,24)	0,804
F ₂ -Isop (ng/l)	27,5 (26,9; 28,1)	26,8 (26,1; 27,5)	27,3 (26,6; 28,0)	27,0 (26,4; 27,7)	27,8 (27,1; 28,4)	27,7 (27,0; 28,4)	0,286

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikanten Trend bzgl. der Phenolkonzentration der Olivenöle mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Olivenölsorte als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; OLAB - oxidiertes LDL-Antikörper, oxLDL - oxidiertes LDL, CD - unkonjugierte Diene, OHFA - Hydroxyfettsäuren, F₂-Isop - F₂-Isoprostane

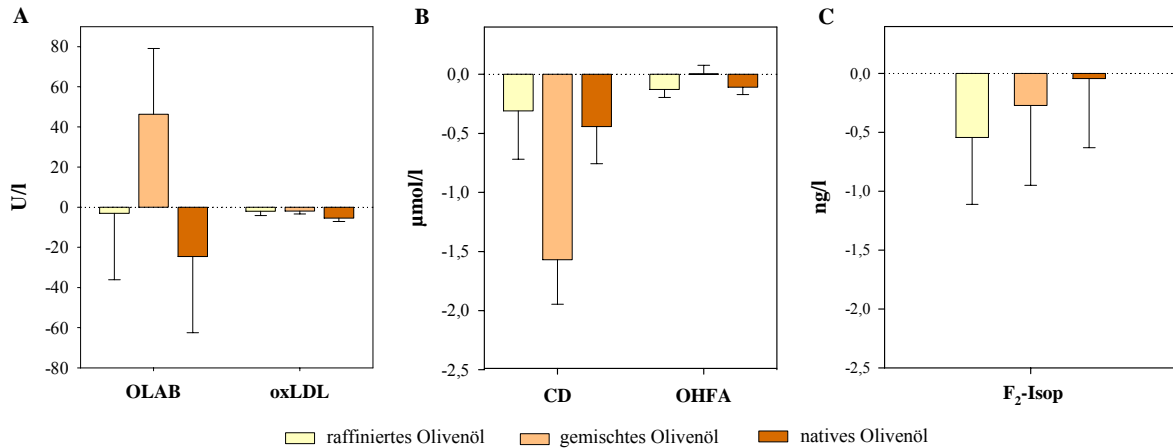


Abb. 7.19: Absolute Veränderungen der Lipidperoxidationsmarker (A: OLAB und oxLDL; B: CD und OHFA; C: F₂-Isop) im Blut in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl; Angaben als Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Tab. 7.9 beschrieben; $p_{Trend} > 0,05$

Die statistische Auswertung bei den Lipidperoxidationsmarkern für die Ermittlung des Olivenöl- und Phenoleffektes beinhaltete die Adjustierung für die gesteigerte Fettaufnahme in den Interventionsperioden mit Olivenölkonsum. Eine Analyse ohne diese Adjustierung ergab konsistente Ergebnisse und hatte folglich keinen Einfluss auf die Grundaussage der eruierten Signifikanzwerte.

7.10 Endogene Antioxidantien

Interventionseffekt

Die im Geschehen des oxidativen Stresses involvierten Enzyme Glutathion-Peroxidase (GSH-Px) und Glutathion-Reduktase (GSSG-Rd) zeigten im Studienverlauf keine tendenzielle Veränderung (Abb. 7.20). Ebenso verhielt es sich bei der Paraoxonase (PON), deren Plasmakonzentration nur geringfügig schwankte. Ausschließlich die Superoxid-Dismutase (SOD) sank tendenziell während der Studiendurchführung von 138,3 (135,9; 140,7) auf 135,6 (133,1; 138,2) U/l ($p_{Trend} = 0,039$; Abb. 7.21). Beim reduzierten Glutathion (GSH) war ein signifikant tendenzieller Anstieg im Blut vom Zeitpunkt t0 (4,63 [4,56; 4,71] μmol/l) bis t6 (6,18 [6,12; 6,23] μmol/l, $p_{Trend} < 0,001$) erkennbar. Im Vergleich dazu

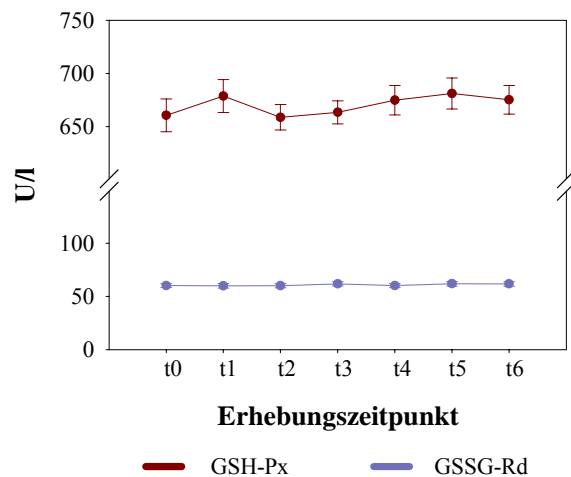


Abb. 7.20: Blutkonzentrationen von GSH-Px und GSSG-Rd im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend mittels gemischtem linearem Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Zeit als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; $p_{Trend} > 0,05$

verhielt sich die Blutkonzentration des oxidierten Glutathion (GSSG) konträr. Dieser Parameter fiel im Studienverlauf von 1,35 (1,34; 1,36) auf 0,68 (0,66; 0,70) $\mu\text{mol/l}$ ($p_{\text{Trend}} < 0,001$). Folglich stieg auch das Verhältnis von GSH zu GSSG von der ersten bis zur letzten Blutabnahme von 3,73 (3,66; 3,80) auf 10,61 (10,26; 10,96) $\mu\text{mol/l}$ an ($p_{\text{Trend}} < 0,001$). Die GSH- und GSSG-Spiegel sowie deren Verhältnis im chronologischen Verlauf der Blutabnahmen ist in Abbildung 7.22 illustriert. Zur Vervollständigung der beschriebenen Ergebnisse findet sich in der Tabelle 11.2 im Anhang 11.6 eine Auflistung aller Messdaten.

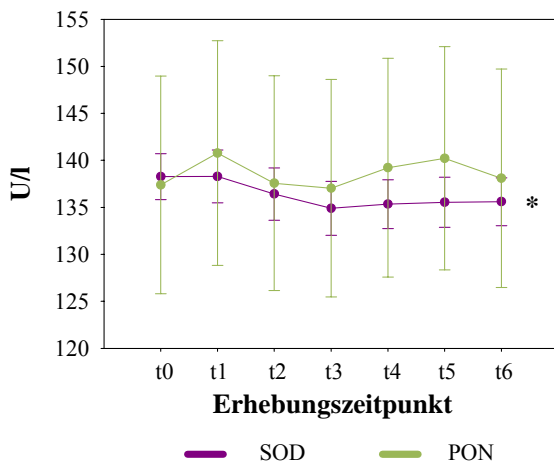


Abb. 7.21: Blutkonzentrationen von SOD und PON im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert \pm SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Abb. 7.20 beschrieben; * $p_{\text{Trend}} < 0,05$

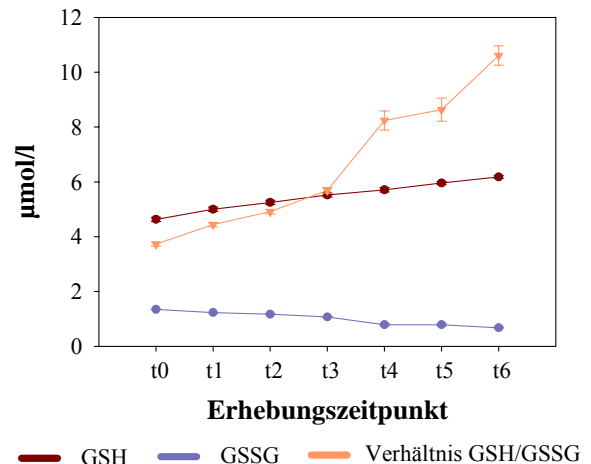


Abb. 7.22: Blutkonzentrationen von GSH, GSSG und deren Verhältnis im Studienverlauf; Angaben als geometrischer Mittelwert \pm SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Abb. 7.20 beschrieben; *** $p_{\text{Trend}} < 0,001$

Olivenöleffekt

Die nachfolgende Tabelle 7.10 gibt die Blutkonzentrationen der antioxidativen Enzyme, reduziertes und oxidiertes Glutathion und deren Verhältnis zu Beginn und Ende der Studienzeiträume mit raffiniertem und ohne Olivenölverzehr wider. Daraus ist zu erkennen, dass sich die Enzyme GSH-Px, GSSG-Rd, PON sowie SOD in Abhängigkeit vom Olivenölkonsum nicht signifikant verändert haben. Die absoluten Veränderungen dieser Enzyme in den zwei Studienphasen ohne und mit raffiniertem Olivenöl werden in der Abbildung 7.23 A veranschaulicht.

Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Verzehrperioden war nur beim GSH. Dieser Parameter stieg in beiden Verzehrzeiträumen an, allerdings stärker in der Run in-Phase ohne Olivenölkonsum (ohne vs. mit: $0,37 \pm 0,03$ vs. $0,22 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/l}$; $p < 0,001$). Im Gegensatz dazu sank GSSG in beiden Studienperioden, jedoch nicht signifikant (ohne vs. mit: $-0,11 \pm 0,01$ vs. $-0,12 \pm 0,03$ $\mu\text{mol/l}$; $p = 0,420$). Bei dem Verhältnis beider Marker zueinander konnte ebenfalls keine Veränderung in Abhängigkeit vom Olivenölkonsum eruiert werden. Die absoluten Veränderungen dieser Parameter in Abhängigkeit vom Olivenölverzehr sind in der nachfolgenden Abbildung 7.23 B und C dargestellt.

Tab. 7.10: Antioxidative Enzyme, reduziertes und oxidiertes Glutathion und deren Verhältnis zu Beginn und Ende der Verzehrsphasen mit und ohne Olivenöl

Parameter	kein Olivenöl		Olivenöl		p
	pre	post	pre	post	
GSH-Px (U/l)	661 (645; 676)	679 (664; 694)	671 (657; 685)	669 (656 ; 682)	0,180
GSSG-Rd U/l)	60,2 (58,5; 62,0)	59,9 (57,8; 62,1)	62,7 (60,7; 65,)	59,6 (57,8; 61,5)	0,203
PON (U/l)	137 (127; 149)	141 (130; 153)	140 (129; 152)	138 (128; 150)	0,236
SOD (U/l)	138 (136; 141)	138 (136; 141)	138 (135; 140)	136 (133; 138)	0,326
GSH $\mu\text{mol/l}$)	4,63 (4,56; 4,71)	5,00 (4,93; 5,08)	5,48 (5,39; 5,57)	5,69 (5,60; 5,79)	<0,001
GSSG ($\mu\text{mol/l}$)	1,35 (1,34; 1,36)	1,23 (1,22; 1,24)	1,02 (0,99; 1,05)	0,89 (0,86; 0,93)	0,420
Verhältnis GSH/GSSG	3,73 (3,66; 3,80)	4,44 (4,36; 4,52)	5,98 (5,71; 6,26)	7,24 (6,88; 7,62)	0,900

Angaben als geometrischen Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikante Gruppenunterschiede mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Treatment als feste Faktoren sowie Probadenummer als zufälliger Faktor; PON - Paraoxonase, SOD - Superoxid-Dismutase GSH-Px - Glutathion-Peroxidase, GSSG-Rd - Glutathion-Reduktase, GSH - reduziertes Glutathion, GSSG - oxidiertes Glutathion, Verhältnis GSH/GSSG - Verhältnis von reduziertem zu oxidiertem Glutathion

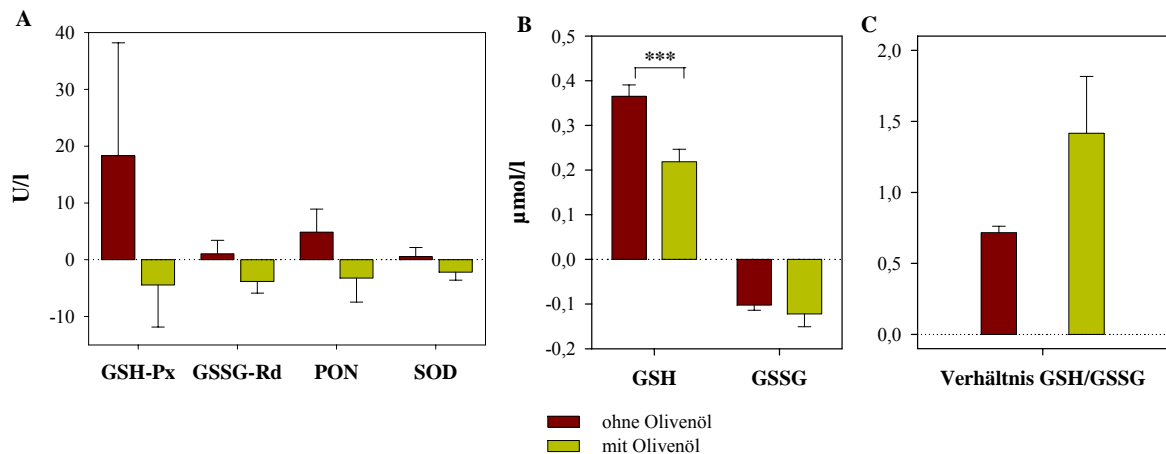


Abb. 7.23: Absolute Veränderungen der antioxidativen Enzyme (A: GSH-Px, GSSG-Rd, PON und SOD), reduziertes und oxidiertes Glutathion (B: GSH und GSSG) und deren Verhältnis (C: Verhältnis GSH/GSSG) im Blut in den Phasen mit und ohne Olivenölverzehr; Angaben als Mittelwert \pm SEM; Test auf signifikante Gruppenunterschiede wie in Tab. 7.10 beschrieben; ***p < 0,001

Phenoleffekt

Der Vergleich der Ausgangs- und Endwerte der drei Interventionsperioden zeigte bei den antioxidativen Enzymen PON, SOD und GSH-Px keine vom Phenolgehalt der Öle abhängige signifikante Veränderung (Tab. 7.11). Im Gegensatz dazu wurde bei der GSSG-Rd ein Einfluss des Phenolgehaltes der Olivenöle ermittelt (p = 0,041). Nach Verzehr des phenolreichsten Olivenöles zeigte sich eine Konzentrationszunahme dieses Enzyms im Blut von $2,77 \pm 2,29$ U/l. Dagegen ist in den Phasen mit gemischtem und raffiniertem Olivenöl eine Abnahme der Konzentration zu verzeichnen. Diese ist nach raffiniertem Öl mit $-3,82 \pm 2,04$ U/l größer als nach gemischtem Öl mit $-1,03 \pm 2,19$ U/l. Bei GSH ist in jeder Interventionsphase ein höherer End- als Anfangswert zu beobachten, was sich bei GSSG konträr verhält. Das Verhältnis von GSH zu GSSG stieg folglich zum Ende jedes Verzehrszeitraumes an. Jedoch lässt sich bei GSH, GSSG oder deren Verhältnis

kein signifikanter Zusammenhang zum Phenolgehalt der verzehrten Olivenöle eruieren. Die absoluten Veränderungen in den Studienphasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenölkonsum sind in der Abbildung 7.24 vergleichend dargestellt.

Wie auch bei den Blutlipiden und den Biomarkern der Lipidperoxidation ergab die statistische Analyse mit und ohne Adjustierung für die erhöhte Fettzufuhr in den Olivenölverzehrperioden konsistente Ergebnisse beim beschriebenen Olivenöl- und Phenoleffekt.

Tab. 7.11: Antioxidative Enzyme, oxidiertes und reduziertes Glutathion und deren Verhältnis zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl

Parameter	Raffiniert		Gemischt		Nativ		P _{Trend}
	pre	post	pre	post	pre	post	
GSH-Px (U/l)	671 (657; 685)	669 (656 ; 682)	673 (659; 686)	669 (655; 683)	679 (666; 693)	671 (660; 683)	0,887
GSSG-Rd (U/l)	62,7 (60,7; 65,)	59,6 (57,8; 61,5)	61,8 (59,8; 63,9)	60,7 (58,7; 62,8)	59,1 (57,4; 60,9)	61,7 (59,8; 63,7)	0,041
PON (U/l)	140 (129; 152)	138 (128; 150)	139 (128; 150)	138 (127; 149)	139 (129; 151)	139 (128; 151)	0,688
SOD (U/l)	138 (135; 140)	136 (133; 138)	135 (133; 138)	136 (133; 139)	136 (133; 139)	136 (133; 138)	0,444
GSH (µmol/l)	5,48 (5,39; 5,57)	5,69 (5,60; 5,79)	5,44 (5,35; 5,53)	5,66 (5,58; 5,75)	5,52 (5,44; 5,61)	5,75 (5,67; 5,83)	0,838
GSSG (µmol/l)	1,02 (0,99; 1,05)	0,89 (0,86; 0,93)	1,04 (1,01; 1,07)	0,85 (0,81; 0,89)	0,99 (0,95; 1,03)	0,84 (0,81; 0,87)	0,480
Verhältnis GSH/GSSG	5,98 (5,71; 6,26)	7,24 (6,88; 7,62)	5,80 (5,56; 6,06)	7,62 (7,19; 8,07)	6,28 (5,95; 6,62)	7,78 (7,40; 8,18)	0,520

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikanten Trend bzgl. der Phenolkonzentration der Olivenöle mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenölverzehrreihenfolge und Olivenölsorte als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; PON - Paraoxonase, SOD - Superoxid-Dismutase, GSH-Px - Glutathion-Peroxidase, GSSG-Rd - Glutathion-Reduktase, GSH - reduziertes Glutathion, GSSG - oxidiertes Glutathion, Verhältnis GSH/GSSG - Verhältnis von reduziertem zu oxidiertem Glutathion

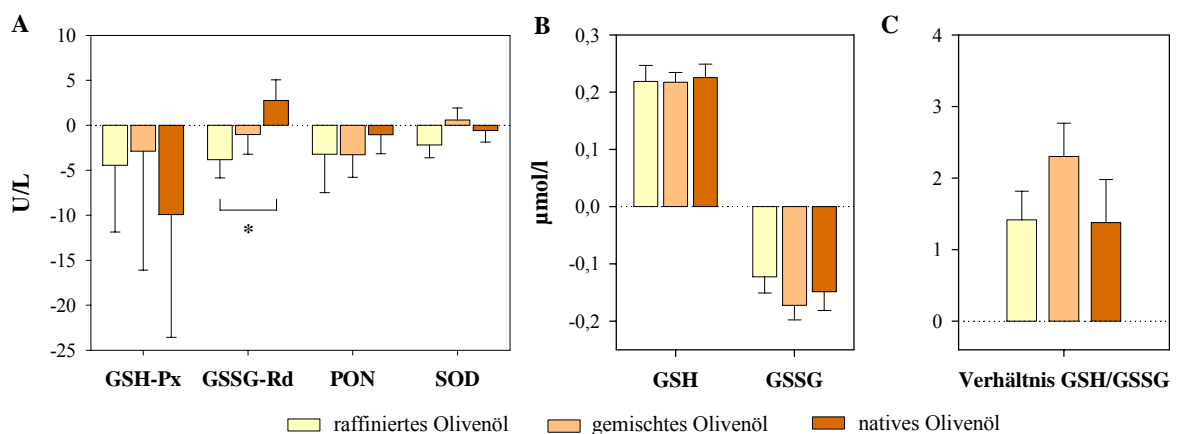


Abb. 7.24: Absolute Veränderungen der antioxidativen Enzyme (A: GSH-Px, GSSG-Rd, PON und SOD), reduziertes und oxidiertes Glutathion (B: GSH und GSSG) und deren Verhältnis (C: Verhältnis GSH/GSSG) im Blut in den Phasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl;

Angaben als Mittelwert ± SEM; Test auf signifikanten Trend wie in Tab. 7.11 beschrieben; *p_{Trend} < 0,05

8 DISKUSSION

Kardiovaskulären Erkrankungen liegt häufig der Prozess der Arteriosklerose zugrunde, deren Pathogenese durch oxidativen Stress begünstigt wird [9, 21]. Anhand epidemiologischer Daten kann eine niedrigere Mortalitätsrate an kardiovaskulären Erkrankungen in den mediterranen Ländern als in mittel- und nordeuropäischen Ländern und in den USA aufgezeigt werden [3, 4]. Daraus entwickelte sich die Hypothese, dass die mediterrane Ernährungsweise eine kardioprotektive Wirkung ausübt und ausschlaggebend für die niedrigere Mortalitätsrate in diesen Regionen ist. In diesem Zusammenhang werden vor allem mögliche kardioprotektive Effekte von Olivenöl diskutiert. Olivenöl ist der Hauptfettlieferant in der mediterranen Diät und zeichnet sich neben dem hohen Gehalt an einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) ebenso durch ein reichhaltiges Spektrum an phenolischen Verbindungen aus [315]. Diesen phenolischen Verbindungen, die sich vorwiegend aus Oleuropein und Ligstrosid sowie deren Hydrolyseprodukten Hydroxytyrosol und Tyrosol zusammensetzen, wird ein antioxidatives Potential zugesprochen [14-17, 252, 316]. Demnach könnte der Verzehr der Olivenölphenole oxidativen Stress inhibieren und folglich das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen senken. Das Ziel der vorliegenden Interventionsstudie war es, die Wirkung der phenolischen Verbindungen im Olivenöl auf Biomarker der Lipidperoxidation und endogene Antioxidantien sowie den Effekt auf die Blulipide an gesunden Männern im Raum Berlin-Brandenburg zu untersuchen.

8.1 Stärken und Schwächen im Studienkonzept

Interventionsstudien stellen mit ihrem experimentellen Charakter eine geeignete Möglichkeit dar, vermutete kausale Zusammenhänge zwischen Exposition (Verzehr von Olivenöl mit unterschiedlichem Phenolgehalt) und Outcome (Blutlipide, Biomarker der Lipidperoxidation und endogene Antioxidantien) zu überprüfen. Die vorliegende Interventionsstudie zeichnete sich durch das randomisierte doppelt-verblindete cross-over Design aus. Die Randomisierung vor Studienbeginn beinhaltete die zufällige Aufteilung der Probanden in die drei möglichen Olivenölverzehrreihenfolgen, wodurch bekannte und unbekannte Störgrößen auf die Gruppen verteilt wurden und beobachtete Unterschiede sich nur noch durch die Gruppencharakteristika erklären lassen. Die Doppelverblindung beugte einer bewussten oder unbewussten Beeinflussung der Ergebnisse durch die Probanden oder den Untersucher vor. Bei direkter Gegenüberstellung der verschiedenen Olivenöle und dem Hintergrundwissen, dass ein höherer Phenolgehalt eine intensivere Grünfärbung sowie einen kräftigeren Olivengeschmack im Öl hervorruft, konnte bei den Untersuchern keine vollkommene Verblindung gewährleistet werden. Das cross-over Design ermöglichte, dass jeder Teilnehmer alle drei Öle konsumierte und somit jeder seine eigene Kontrolle darstellte.

Die Verwendung von identischen Olivenölen ausschließlich variierend im Gehalt an phenolischen Komponenten war zum Zeitpunkt der Studienplanung ein innovativer Studienansatz. Bestandteil vorheriger Interventionsstudien war vorwiegend der Vergleich von nativem Olivenöl mit anderen Ölsorten [317-320], was keine eindeutige Aussage über die Wirkung der Olivenölphenole zuließ.

Die Festlegung von Ein- und Ausschlusskriterien (vgl. Tab. 6.2 Kapitel 6.1) diente dazu, eine möglichst homogene Teilgruppe zu definieren und somit Störgrößen einzuschränken oder zu eliminieren. Die Altersgrenze wurde auf maximal 60 Jahre festgelegt, da mit zunehmendem Alter oxidative Schädigungen nicht mehr optimal ausgeglichen werden können und somit oxidativer Stress und das damit einhergehend Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen steigt [321-323]. Dies hätte einer möglichen antioxidativen Wirkung der Olivenölphenole entgegenwirkt. Ebenso wurden Raucher und Personen mit einer hohen körperlichen Freizeitaktivität ausgeschlossen, da beides die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) im Organismus initiiert und den oxidativen Stress erhöht [287, 324-328]. Zusätzlich führte die übermäßige Aufnahme an antioxidativ wirkenden Substanzen über Medikamente (z.B. Acetylsalicylsäure) oder Supplemente mit antioxidativer Wirkung zum Ausschluss. Die Einnahme anderer Antioxidantien hätte das Ergebnis bezüglich des antioxidativen Potentials der Phenole im Olivenöl verfälscht. Einen ähnlichen Einfluss hätte eine erhöhte Aufnahme von Antioxidantien vorwiegend über Obst und Gemüse, wie es bei den Vegetariern zu beobachten ist, haben können. Demnach wurden Vegetarier ausgeschlossen und den Probanden für den Verlauf der Studie Ernährungsrichtlinien vorgegeben, die eine übermäßige Aufnahme an phenolreichen Lebensmitteln vermeiden sollten (vgl. Kapitel 6.4.3).

Die Olivenöle wurden über den gesamten Studienzeitraum hinweg einer strengen Qualitätskontrolle unterzogen, weshalb lagerungsbedingte Modifikationen ausgeschlossen werden konnten.

Zusammenfassend stellte das vorliegende Studiendesign eine geeignete Form dar, die gesetzte Zielstellung zu beantworten.

8.2 Bewertung der Compliance

Die Compliance der Probanden wurde anhand der Exkretion der phenolischen Marker Tyrosol (T), Hydroxytyrosol (OHT) und 3-O-Methylhydroxytyrosol (MOHT) im 24-h-Urin beurteilt. Diese Analyse erfolgte zu Baseline sowie zu Beginn und Ende der Olivenölinterventionen. Zum Studienbeginn war die Ausscheidung von T, OHT und MOHT gleich bzw. geringfügig niedriger als nach Verzehr des annähernd phenolfreien raffinierten Öles, was darauf schließen lässt, dass natives phenolreiches Olivenöl nicht regelmäßiger Bestandteil der habituellen Ernährung der Probanden war. Ebenso zeigte sich zu Beginn und Ende des Verzehrzeitraumes des raffinierten Olivenöles keine Veränderung in den Ausscheidungsraten der phenolischen Marker. Die Exkretion von T, OHT und MOHT stieg in Abhängigkeit von der Konzentration der phenolischen Verbindungen in den konsumierten Ölen an. Das native Olivenöl enthielt eine zweifach höhere Phenolkonzentration als das gemischte Öl. Dieses Verhältnis fand sich annähernd bei der renalen Ausscheidung der Compliancemarkers nach Verzehr beider Olivenöle wieder. Eine solche dosisabhängige Exkretion wurde bereits bei mehreren Studien nachgewiesen [236, 237, 311, 329]. Trotz äquivalenter Verzehrsmengen ist eine große interindividuelle Schwankungsbreite bei der renalen Ausscheidung von T, OHT und MOHT vorhanden, was auf Unterschiede im Metabolismus dieser Phenole hindeuten könnte.

Dennoch sollte erwähnt werden, dass die Analysen keine absolute Kontrolle für den Verzehr des raffinierten Olivenöles sowie für den täglichen dreiwöchigen Verzehr der Öle darstellte, sondern vorwiegend den Konsum in den Tagen vor der Urinsammlung belegen. Jedoch erhöht die Information an die Probanden, dass der tatsächliche Verzehr überprüft werden kann, die Wahrscheinlichkeit einer ordnungsgemäßen Studiendurchführung. Dessenungeachtet kann insgesamt gesagt werden, dass die renale Ausscheidung der einfachen Phenole T, OHT und MOHT verlässlich deren Aufnahme über Olivenöl reflektiert und die vorliegenden Analysewerte für eine gute Compliance der Probanden sprechen.

Aus der beschriebenen dosisabhängigen renalen Exkretion der Olivenölphenole lässt sich außerdem schlussfolgern, dass die Phenole einer vorherigen Resorption in den Blutkreislauf unterlagen. Folglich könnten diese auch systemisch wirken. Bereits in vorherigen Studien wurden OHT und T nach Verzehr von nativem Olivenöl oder entsprechender Supplemente im Plasma und Urin wiedergefunden [236-243, 245], sogar eine dosisabhängige Resorption wurde ermittelt [236, 237, 246]. Ebenso zeigten Weinbrenner und Kollegen [311], dass nach Konsum von Olivenöl mit verschiedenen Phenolgehalten MOHT im Plasma und Urin nachgewiesen werden kann und sich dessen Konzentration in Abhängigkeit von der Phenolkonzentration der Olivenöle verändert.

8.3 Anthropometrische Daten und Gelegenheitsblutdruck

Die anthropometrischen Parameter Gewicht und BMI wurden zu jedem Erhebungszeitpunkt im Studienverlauf ermittelt. Anhand des BMI konnte die Studienpopulation als normalgewichtig eingestuft werden [312]. Weiterhin wurden keine Unterschiede im Gewicht und im BMI in den drei randomisierten Verzehrgruppen zu Baseline eruiert. Ebenso zeigte sich über den gesamten Studienverlauf, weder im Vergleich der Olivenöl- mit der Nicht-Olivenölverzehrphase noch im Vergleich der drei Interventionszeiträume beider Parameter trotz der Fettsupplementierung keine signifikante Veränderung. Folglich kann ein möglicher Einfluss durch Gewichtsveränderungen auf die analysierten Blutparameter ausgeschlossen werden.

Hypertonie ist einer der Hauptrisikofaktoren für kardiovaskuläre Herzerkrankungen und Apoplex [1, 330]. In der vorliegenden Studie konnte kein Zusammenhang zwischen dem systolischen (SBD) und diastolischen (DBD) Blutdruck und dem Verzehr von Olivenöl und dessen Gehalt an phenolischen Verbindungen beobachtet werden. Ausschließlich über den zeitlichen Verlauf der Studie war eine Senkung von SBD und DBD nachzuweisen. Bei diesem Resultat sollte in Betracht gezogen werden, dass es sich bei diesen Blutdruckdaten um ambulante Gelegenheitsblutdruckmessungen handelt, die ausschließlich eine Aussage über den physischen Zustand zu einem bestimmten Zeitpunkt zulassen. Die marginale Absenkung des SBD von 123 (122; 125) auf 119 (117; 121) mmHg und des DBD von 78 (78; 79) auf 76 (75; 76) mmHg spiegelt zumindest partiell die größere psychische Anspannung der Probanden zu Beginn durch die noch unbekanntere Studiensituation verglichen zum Studienende wider (Weißer-Kittel-Effekt) [331].

Anders als die hier beschriebene experimentelle Studie konnte die Querschnittsstudie von Trevisan *et al.* [332] an italienischen Männern und Frauen eine inverse Korrelation zwischen dem Olivenölverzehr und dem SBD nachweisen. Eine solche Assoziation wurde vorher bereits in einer amerikanischen Querschnittsstudie an Männern für SBD und zusätzlich DBD beobachtet [333]. Mehrere Interventionsstudien bestärken diesen Zusammenhang [334-336]. So zeigte beispielsweise Ferrara *et al.* [334], dass eine sechsmonatige olivenölreiche Ernährung im Vergleich zu einer Diät reich an mehrfach ungesättigten Fettsäuren (PUFA) SBD und DBD bei Hypertonikern senkt und dadurch die medikamentöse Behandlung reduziert werden kann. Die Reduktion des SBD und DBD aufgrund des Ersatzes von gesättigten Fettsäuren (SFA) oder Kohlenhydraten zu Gunsten von einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) in der Diät wurde von Perez-Jimenez *et al.* [182] auf 3 - 10 % zusammengefasst. Beim Vergleich einer dreiwöchigen täglichen Applikation von 50 ml phenolarmem sowie phenolreichem Olivenöl stellte sich nach beiden Interventionen eine Senkung des SBD bei hypertensiven stabilen CVD-Patienten ein. Dabei fiel die Reduktion des SBD nach Verzehr des phenolreichen Olivenöles deutlicher aus. Welche Rolle die Olivenölphenole bei diesem Resultat spielen könnten, wurde jedoch nicht erörtert. [294] Als mögliche Mechanismen für die antihypertensive Wirkung des Olivenöls wird zum einen die Modifizierung des Lipidprofils zellulärer Membranen durch die Nahrungsfette diskutiert. Dabei soll die Veränderung den Transport von Na^+ , Ca^{2+} und anderer Ionen durch die Membran und somit den Blutdruck beeinflussen. [332, 337, 338] Zum anderen könnte der Olivenölkonsum über die Förderung der arteriellen Freisetzung von Prostazyklinen Einfluss auf den Blutdruck nehmen [339]. Das Ausbleiben einer antihypertensiven Wirkung des Olivenöles in der vorliegenden Studie könnte auf eine unzureichende Verzehrsmenge zurückzuführen sein. Wahrscheinlicher ist jedoch, dass infolge des bereits normalen bis optimalen Blutdruckbereich [340] der Probanden ein Blutdruck-senkender Effekt ausblieb.

8.4 Bewertung der Ernährungserhebung und des Olivenölverzehrverhaltens

Die Erhebung des Ernährungsverhaltens zum Studienbeginn und jeweils am Ende der drei Interventionsperioden mit Hilfe von 3-Tage-Ernährungsprotokollen diente der Abschätzung des Einflusses von Störgrößen. Die Ernährungsweise sollte sich aufgrund der Studie nicht wesentlich verändern, um einen möglichen Einfluss auf die gemessenen Biomarker ausschließlich auf den Konsum der Phenole im Olivenöl zurückführen zu können. Außerdem diente die Protokollierung der Kontrolle der vorgegebenen Ernährungsrichtlinien und der Überprüfung, ob das Olivenöl der Anweisung entsprechend mit anderen Nahrungsfetten substituiert wurde.

Die Beurteilung der Validität der Ernährungserhebung erfolgte auf der Grundlage des von einer Subpopulation (n = 38) parallel geführten 7-Tage-Aktivitätsprotokolls. Dieses Aktivitätsprotokoll wurde gegen die Isotopendilutionsmethode mit doppelt stabil markiertem Wasser, als Goldstandard der Bestimmung des Energieverbrauches, validiert und zeigte mit einem Korrelationskoeffizienten

von $r = 0,880$ ($p < 0,001$) eine hohe Übereinstimmung [291]. Folglich bildete es eine gute Grundlage für die Beurteilung des verwendeten 3-Tage-Ernährungsprotokolls.

Die Energieaufnahme der Subpopulation betrug 2803 ± 692 kcal/d und der Energieverbrauch 3131 ± 634 kcal/d, was in einer mittleren Differenz von -328 ± 699 kcal/d resultierte. Beide Protokollmethoden korrelieren mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,444$ ($p < 0,001$) gut miteinander. Im Vergleich dazu schwanken die postulierten Korrelationskoeffizienten verschiedener Ernährungserhebungsmethoden direkt getestet gegen die Isotopendilutionsmethode mit doppelt stabil markiertem Wasser zwischen 0,46 und 0,86 [341-343] oder liegen noch darunter [344, 345].

Aus der negativen Differenz von -328 ± 699 kcal/d zwischen Energieaufnahme und -verbrauch kann geschlussfolgert werden, dass das vorliegende Ernährungsprotokoll die tatsächliche Energiezufuhr leicht unterschätzte. Dieses „missreporting“ kann aus der erhebungsbedingten Veränderung der Ernährungsgewohnheiten oder aus bewussten oder unbewussten Fehlangaben der Probanden resultieren. In dieser Subpopulation zeigte, entgegen der von Tomayasu *et al.* [346] publizierten inversen Beziehung zwischen dem Alter und der Genauigkeit der protokollierten Energiezufuhr, bei dieser Analyse das Alter der Probanden keinen Einfluss. Allerdings konnte eine negative Assoziation zwischen dem BMI und der Differenz zwischen Energieaufnahme und -verbrauch ermittelt werden, was darauf hindeutet, dass mit steigendem BMI die tatsächliche Energieaufnahme zunehmend unterschätzt wurde. Dieses Ergebnis geht einher mit Studien, die eine höhere Validität des ermittelten Ernährungsverhaltens bei schlanken Personen [347] und eine geringere Validität bei adipösen Probanden [348] belegten.

Das Ernährungsverhalten innerhalb der drei Randomisierungsgruppen unterschied sich zu Baseline nicht voneinander, was für eine erfolgreiche Randomisierung spricht und die Vergleichbarkeit der drei Gruppen zulässt.

Im Studienverlauf, im Vergleich der Olivenöl- und Nicht-Olivenölverzehrperiode sowie im Vergleich der drei Interventionen zeigte sich in der Energiezufuhr keine signifikante Veränderung. Die Fettaufnahme war zu Beginn der Studie geringer als im Zeitraum mit Olivenölverzehr. Die signifikant erhöhte Fettzufuhr beruhte auf der Tatsache, dass die Probanden nicht in der Lage waren, die drei Olivenöle mit den gewöhnlich verzehrten Fetten zu substituieren. Entgegen der Anweisung wurden die Olivenöle supplementiert. Damit einhergehend verminderte sich die Kohlenhydrat- und Proteinaufnahme. Innerhalb der Interventionen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Öl variierte die Aufnahme der Hauptnährstoffe Kohlenhydrate und Fett nicht. Ausschließlich die Proteinzufuhr unterschied sich zwischen den Ölen, was als zufällige Veränderung eingestuft werden kann.

Die ermittelte Energiezufuhr über Kohlenhydrate (48,3 Energie-%), Fett (34,0 Energie-%) und Protein (14,9 Energie-%) zu Beginn der Studie ohne Olivenölverzehr entspricht annähernd den in der Einkommens- und Verbrauchsstichprobe berechneten Anteilen für deutsche Männer. Diese variieren in den Altersgruppen von 19 - 65 Jahren für Kohlenhydrate von 41,7 - 49,5 Energie-%, für

Fett von 34,8 - 37,8 Energie-% und für Protein von 13,4 - 13,9 Energie-%. [349] Im Vergleich zu den Richtwerten für die Zufuhr der Hauptnährstoffe der Deutschen Gesellschaft für Ernährung [350] lag der verzehrte Kohlenhydratanteil mit 45 - 48 Energie-% pro Tag (vgl. Tab. 11.2, Anhang 11.5) im gesamten Studienverlauf unter den empfohlenen > 50 Energie-% pro Tag. Die Fettaufnahme, die durch den Olivenölkonsum zusätzlich erhöht wurde, bewegte sich mit 34 - 38 Energie-% pro Tag über der empfohlenen täglichen Zufuhr von 30 Energie-%. Das entsprach jedoch dem Fettverzehr in den mediterranen Ländern (33 - 40 Energie-%) [182].

Der dominierende Anteil der SFA zu Studienbeginn verminderte sich in der Interventionsperiode zu Gunsten der MUFA. Die Zufuhr der PUFA blieb im Untersuchungszeitraum ohne und mit Olivenölverzehr konstant. Die Zunahme des MUFA-Anteils in der Ernährung ist auf die Applikation des MUFA-reichen Olivenöles zurückzuführen, deren Fettsäureprofil wie folgt aussah: 14,2 - 14,5 % SFA, 80,3 - 81,8 % MUFA, 3,7 - 5,2 % PUFA (vgl. Tab. 6.4, Kapitel 6.4.1). Die Ölsäurezufuhr verhielt sich analog der MUFA-Aufnahme. Im Zeitraum ohne Olivenöl war der Anteil an der Gesamtfettzufuhr geringer als in der Olivenölverzehrperiode. Diese Veränderung basiert ebenfalls auf dem Konsum des Olivenöles. Ölsäure ist mit einem Anteil von 79 - 80 % die dominierende MUFA im Olivenöl.

Die Fettsäurezusammensetzung der Nahrung bestand zu Studienbeginn aus 14,3 Energie-% SFA, 11,8 Energie-% MUFA und 4,8 Energie-% PUFA. Im Vergleich dazu ermittelte die Einkommens- und Verbrauchsstichprobe für deutschen Männer in der entsprechenden Altersgruppe eine Fettsäurekomposition der Nahrung von SFA 13,3 - 14,9 Energie-%, MUFA 11,7 - 13,5 Energie-% und PUFA 6,8 - 7,3 Energie-% [349]. Während die PUFA-Zufuhr in der vorliegenden Studienpopulation geringer ist, kongruieren die Anteile an der Energieaufnahme für SFA und MUFA. Aufgrund des Olivenölverzehrs stieg der MUFA-Anteil auf 16,4 Energie-%, was der unteren Grenze des postulierten MUFA-Anteils in den mediterranen Ländern von 16 - 29 Energie-% entspricht. Die SFA-Aufnahme lag mit 13,1 Energie-% über und die PUFA-Aufnahme mit 4,8 Energie-% unter den Zufuhranteilen in den mediterranen Regionen (SFA: ≤ 8 Energie-%, PUFA: < 7 Energie-%). [182]

Das Verhältnis von SFA zu MUFA in der Nicht-Olivenöl- zur Olivenölverzehrperiode verschob sich von 1,2 auf 0,8. Das gesunkene Verhältnis von SFA zu MUFA aufgrund des Olivenölverzehrs stellt eine Annäherung an das beschriebene Verhältnis in der traditionellen mediterranen Diät von 0,5 bis 0,25 dar [8, 180, 351]. Durch die gleichbleibende PUFA-Aufnahme verringert sich ebenfalls das Verhältnis von gesättigten zu ungesättigten Fettsäuren von 0,9 in den Wochen ohne Olivenöl auf 0,6 mit Olivenölkonsum. Aufgrund des Olivenölverzehrs wurde eine Adaption an das von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung empfohlene Verhältnis von gesättigten zu ungesättigten Fettsäuren von 0,5 erreicht [350].

Innerhalb der Verzehrsphasen mit raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl konnte kein Unterschied in der SFA-, MUFA- und PUFA- und Ölsäureaufnahme beobachtet werden, was vermutlich auf der gleichen Fettsäurekomposition der drei Öle beruht.

Insgesamt gesehen, hat sich das Verhältnis der Fettsäuren zueinander aufgrund des Olivenölverzehr verbessert, jedoch ist die Aufnahme von Fett ungünstig gestiegen. Diese Fettsupplementierung fand im statistischen Modell für die Ermittlung des Interventions-, Olivenöl- und Phenoleffektes Berücksichtigung. Die nachfolgend diskutierten Ergebnisse zeigten sich jedoch unabhängig von der Adjustierung für die Fettdifferenz, woraus geschlossen werden kann, dass die Fettsupplementierung anstelle der geforderten Substitution keine Auswirkung auf die ermittelten Ergebnisse hatte.

Ebenfalls auf den Olivenölkonsum zurückzuführen ist die höhere Vitamin-E-Aufnahme in den Phasen mit Olivenölkonsum im Vergleich zu den Kontrollwochen. Diese Veränderung war bereits bei der Analyse der Ernährungserhebungen in chronologischer Reihenfolge ersichtlich. Trotz der gestiegenen Vitamin-E-Aufnahme durch den Olivenölverzehr lag die Zufuhr variierend zwischen 9,4 - 11,7 mg/d (vgl. Tab. 11.2, Anhang 11.5) unter den Richtwerten der Deutschen Gesellschaft für Ernährung, die eine tägliche Aufnahme von 13 - 15 mg/d für die Altersgruppe 20 - 60 Jahre empfiehlt [350]. Auch im Vergleich zu den Angaben aus der Einkommens- und Verbrauchsstichprobe, die in dieser Altersgruppe eine Aufnahme von 14,5 - 17,7 mg dokumentiert [349], nimmt die vorliegende Studienpopulation weniger Vitamin E zu sich. Ebenso variierte die Vitamin-E-Zufuhr nach raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl, wobei es sich wohl eher um eine zufällige Veränderung handelt, da sich die Olivenöle im Vitamin-E-Gehalt nicht unterscheiden.

Ein Großteil der Probanden, die zu ihrem Olivenölverzehrverhalten gefragt wurden ($n = 38$), hatten bereits vor Studienbeginn Olivenöl konsumiert und im eigenen Haushalt verwendet. Dieser hohe Anteil könnte auf einem Selektionsbias bei der Probandenrekrutierung basieren, der darauf beruht, dass sich überwiegend Probanden meldeten, die sich für das Studienthema interessierten und eine erhöhte Akzeptanz gegenüber Olivenölkonsum aufwiesen. Nach Ablauf der Studie konnten sich weitere 5,3 % vorstellen, Olivenöl in ihre habituelle Ernährung zu integrieren. Der Kauf der phenolreichen nativen und extra nativen Olivenölsorten wurde präferiert. Der höhere Phenolgehalt in nativem und extra nativem Öl resultiert in einem kräftigeren Olivengeschmack sowie in einem satteren Grünton des Olivenöles. Jedoch bevorzugte mehr als ein Drittel einen milden Olivengeschmack. Trotz der Tatsache, dass diese ausgewählte Studienpopulation eine hohe Akzeptanz Olivenöl gegenüber aufweist, liegt der Anteil an sonstigen pflanzlichen Speisefetten und -ölen in der Nahrung für deutsche Männer und Frauen deutlich unter dem Anteil von Butter und Margarine [349].

8.5 Blutlipide

Die Serumspiegel von Gesamtcholesterin (tChol), HDL-Cholesterin (HDL-C), LDL-Cholesterin (LDL-C) und Triglyzeriden (TG) sind anerkannte Biomarker für das CVD-Risiko, deren Veränderung auf kardioprotektive Wirkungen von Lebensmitteln hinweisen können. Epidemiologische Studien belegen, dass bei Personen mit erhöhten tChol-, LDL-C- und TG-Konzentrationen im Blut das Arterioskleroserisiko steigt. Im Gegensatz dazu mindert ein hoher HDL-C-Spiegel dieses Risiko. [1, 352-354]

Interventionseffekt

Im Verlauf der Studiendurchführung blieben die Blutlipide tChol, LDL-C und TG annähernd konstant. Im Vergleich zu deren angegebenen Referenzwerten [313] deutete kein Parameter auf ein erhöhtes CVD-Risiko. Lediglich HDL-C stieg geringfügig von 1,34 (1,31; 1,38) mmol/l auf 1,42 (1,39; 1,46) mmol/l. Der basale HDL-C-Spiegel lag folglich unter dem Referenzbereich von 1,4 mmol/l. In dieser marginalen Erhöhung könnte sich der insgesamt neunwöchige Olivenölverzehr widerspiegeln. Der positive Effekt, der in den Interventionswochen erzielt wurde, überwog die Senkung in den Wash out-Phasen und führt somit zu einem Anstieg über den Studienverlauf hinweg.

Olivenöleffekt

Der Vergleich der Veränderungen in der Run in-Phase ohne Olivenölverzehr und der Interventionsperiode mit raffiniertem Olivenölverzehr zeigte beim HDL-C und LDL-C keinen Unterschied. Ausschließlich der tChol- und TG-Spiegel wurde nach Olivenölkonsum signifikant gemindert. Diese Veränderung der Blutlipidspiegel ging einher mit einer gestiegenen Fettaufnahme in der Olivenölintervention, während die Kohlenhydrat- und Proteinzufuhr sank. Die Wirkung des Olivenölverzehrs auf die Blutlipide zeigte sich jedoch unabhängig von der erhöhten Fettzufuhr. Gleichzeitig stieg aufgrund des Olivenölverzehrs die MUFA- sowie Ölsäureaufnahme zu Lasten von SFA bei unveränderter PUFA-Aufnahme.

Eine MUFA-reiche Ernährung konnte bereits mit einem niedrigeren kardiovaskulären Risikoprofil assoziiert werden [184, 189, 332, 355]. So zeigte der Austausch von SFA mit MUFA eine tChol- und LDL-C-senkende Wirkung [356-359], während eine SFA-reiche Diät die Serumkonzentration von tChol erhöhte [332, 360]. Kris-Etherton *et al.* [361] beobachteten aufgrund einer 24-tägigen olivenölreichen Ernährung (21 Energie-%) eine 10 %-ige tChol- sowie eine 14 %-ige LDL-C-Reduktion. Ein ähnliches Ergebnis mit einer tChol und LDL-C-Minderung um 8 % bzw. 15 % erzielte Williams [362] nach einer achtwöchigen MUFA-reichen Diät (24 Energie-%). Vielzahl publizierter Interventionsstudien bestätigen diese tChol- und LDL-C-senkende Wirkung nach mindestens dreiwöchigem Olivenölverzehr im Gegensatz zu einem hohen Anteil an SFA in der Ernährung [363-368]. Im Vergleich dazu konnte trotz geringerem MUFA-Anteil in der Ernährung, als bei Kris-Etherton *et al.* und Williams beschrieben, in der vorliegenden Studie eine Senkung des tChol-Spiegels um 4 % erzielt werden, während LDL-C unverändert blieb. Bei Nydahl *et al.* [369] und Coudhury *et al.* [370] konnte der mehrwöchige Olivenölverzehr ebenso das

Serum-LDL-C nicht beeinflussen. Dabei sollte erwähnt werden, dass in beiden Studien Olivenöl auch keine Wirkung auf die anderen Blutlipide hatte.

Im überwiegenden Anteil veröffentlichter Studien [359-365, 367, 369, 370] zeigte sich das Serum-HDL-C durch mehrwöchige olivenölreiche Ernährungsweise unbeeinflusst, was das eigene Ergebnis ebenfalls widerspiegelt. In der von Kratz *et al.* [366] beschriebenen Studie resultierte der teilweise Ersatz von SFA mit Olivenöl sogar in einer verminderten HDL-C-Konzentration im Blut. Im Gegensatz dazu kamen Moreno & Mitjavila [371] zu dem Schluss, dass eine der kardioprotektiven Eigenschaften des Olivenölverzehr auf der HDL-C-erhöhenden Wirkung beruht. Was ebenfalls die Resultate von Mata *et al.* [368] und Mensink *et al.* [372] widerspiegeln. Die Auswertung verschiedener prospektiver Studien zeigte eine um 2 - 3 % sinkende Inzidenz an KHK bei Erhöhung der HDL-C-Konzentration um 0,026 mmol/l [354].

Die Serum-TG blieben beim Ersatz von SFA in der Ernährung zu Gunsten von MUFA laut der Meta-Analyse von Gardner & Kraemer [360] sowie in anderen Studien [356, 359] unberührt. Andererseits konnte Kris-Etherton *et al.* [361] nach olivenölreicher Diät eine TG-Reduktion um 13 % erzielen, was mit dem hier beschriebenen Studienergebnis konform geht. In den drei Wochen mit Olivenölkonsum konnte TG um 10 % vermindert werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Aufnahme von Olivenöl in die habituelle Ernährung durch die Verringerung des tChol- und TG-Spiegels in einer kardioprotektiven Veränderung der Blutlipide resultierte. Allerdings sollte bei diesem Resultat berücksichtigt werden, dass das Studiendesign nicht dazu ausgelegt war, den Effekt des Olivenölverzehr zu bestimmen, sondern die Wirkung der Olivenölphenole zu ermitteln.

Phenoleffekt

Ein Zusammenhang zwischen den Blutlipiden und den steigenden Phenolgehalten der Olivenöle wurde in der vorliegenden Studie nicht beobachtet. Es konnte lediglich ein grenzwertiger Signifikanzwert ($p = 0,055$) für tChol berechnet werden. Jedoch spiegelt dieser eine inverse Beziehung zwischen tChol und dem Phenolverzehr wider. Die gleiche Tendenz war für TG zu erkennen. Von einer ähnlichen jedoch signifikanten Beeinflussung der TG durch phenolarmes Olivenöl berichtete Ramirez-Tortosa *et al.* [276]. Nach Konsum des phenolarmen Olivenöles war der TG-Gehalt im Plasma sowie im LDL-Partikel geringer als nach phenolreichem Öl, während tChol, HDL-C und LDL-C unverändert blieben. Dieser Effekt wurde ebenso bei Wiseman *et al.* [259] und Ramirez-Tortosa *et al.* [373] im Tiermodell gezeigt. Weshalb diese Wirkung bei phenolarmem Olivenöl erzielt wurde, blieb unbeantwortet. Im Gegensatz dazu bewirkte die Integration phenolreicher Extrakte aus grünen und schwarzen Oliven in Kombination mit einer cholesterinreichen Diät bei Ratten eine Senkung des tChol sowie des LDL-C [374].

Andere Studien eruierten dagegen eine Veränderung des HDL-C-Spiegels. So konnten im Tiermodell nach Applikation phenolreichen Olivenöles [375], phenolreichen Extrakten aus grünen und schwarzen Oliven [374], phenolreichen Pflanzenextraktes [376] und flavonoidhaltiger Supplemente [377] sowie in humanen Interventionsstudien nach Verabreichung phenolreichen Olivenöles [310], Kakao [378] und Saftes [379] ein günstigerer HDL-C-Spiegel erzielt werden.

Weinbrenner *et al.* [311] ermittelte darüber hinaus einen tendenziellen Anstieg des HDL-C mit zunehmendem Phenolgehalt der Olivenöle. Über die Mechanismen, auf denen die Beeinflussung der Blutlipide beruhen könnten, wurde bisher nur spekulativ eingegangen. So sieht Weinbrenner *et al.* [311] eine mögliche Interaktion mit der Lipoproteinlipase-Aktivität. Neben den beschriebenen Wirkungen wurden gleichzeitig Humanstudien publiziert, die mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit konform gehen und keinen Phenoleffekt der Olivenöle auf die Blutlipide dokumentieren [246, 278, 294]. Demnach konnte Fito *et al.* [294] beim Vergleich des dreiwöchigen Verzehrs von 50 ml phenolreichem mit phenolarmem Olivenöl bei Männern mit stabiler CVD keinen Unterschied im Blutlipidspiegel feststellen. Bestätigung fand dieses Resultat durch die Interventionsstudie mit gesunden Männern und Frauen von Vissers und Kollegen [278], die ebenso nach drei Wochen 50 ml phenolreichem und phenolarmem Olivenölverzehr keinen Phenoleffekt auf tChol, HDL und LDL nachwiesen.

8.6 Lipidperoxidation

Biomarker, die den oxidativen Stress im Organismus widerspiegeln, dienen als Indikatoren für die Pathogenese von oxidativem Stress assoziierten Erkrankungen. Die direkte Messung von reaktiven Sauerstoffspezies erweist sich aufgrund der vorwiegend hohen Reaktionsfreudigkeit und der daraus folgenden geringen Halbwertszeit sowie durch den Mangel an ausreichend sensitiven Nachweismethoden für die geringen in Zellen vorherrschenden Konzentrationen als schwierig. Folglich hat sich die Bestimmung von stabilen Reaktionsprodukten resultierend aus der Reaktion von ROS mit Lipiden, Proteinen und DNS sowie von endogenen und exogenen Antioxidantien als indirekte Methode zur Beurteilung des oxidativen Stresses etabliert. [380] Ein geeigneter Biomarker muss neben der Indikatorfunktion für die Pathogenese der Erkrankung weitere Kriterien erfüllen, welche in Tabelle 8.1 zusammengefasst werden.

Tab. 8.1: Kriterien für einen idealen Biomarker zur Beurteilung des oxidativen Stresses
[modifiziert nach 62]

Kriterien
<ul style="list-style-type: none"> • Indikator für die Pathogenese der Erkrankung oder für die untersuchte Fragestellung • spiegelt ein biologisches Ereignis wider, welches in Bezug zur Pathogenese der Erkrankung steht • unterliegt im gleichen Individuum unter gleichen Bedingungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten keinen großen Schwankungen • weist direkten Bezug zu Ereignissen in einer kurzen Zeitperiode auf oder spiegelt die Verflechtung von Ereignissen über eine definierte Zeitperiode wider • gewährleistet identische Ergebnisse bei der Analyse gleicher Proben in verschiedenen Laboratorien • unterliegt keiner Beeinflussung durch die Ernährung • unterliegt keinen Veränderungen während der Aufbewahrung des Probenmaterials • vorzugsweise nicht-invasive Probengewinnung • geringe Kosten für die Probenanalyse sowie Messung hoher Probenanzahlen in einem angemessenem Zeitraum

Bei der Vielzahl an Reaktionsmöglichkeiten von ROS lässt die Analyse nur eines Biomarkers keine eindeutige Schlussfolgerung bezüglich der oxidativen Stresssituation im Organismus zu. Vielmehr

ist die Analyse mehrerer Parameter notwendig [72]. Außerdem divergieren die Aussagen in der Literatur über die Eignung der verschiedenen Marker, was zusätzlich für die Messung mehrerer Parameter spricht, um damit einen umfassenden Blick auf die Redox-Situation im Organismus zu ermöglichen. Dieser Anforderung konnte in der vorliegenden Studie durch die Messung von verschiedenen Markern der Lipidperoxidation ergänzend durch die Bestimmung antioxidativer Enzyme sowie von reduziertem/oxidiertem Glutathion entsprochen werden.

Zur Beurteilung der Lipidperoxidation *in vivo* wurde der Grad der Peroxidation in Lipoproteinen im Blut anhand der Analyse von ungesättigten Fettsäureradikalen mit konjugierter Dien-Struktur im LDL (CD) und oxidierten LDL-Partikeln (oxLDL) eruiert sowie die immunologische Reaktion auf oxLDL durch die Bildung von oxLDL-Antikörpern (OLAB) bestimmt. Zusätzlich wurden im Blut F₂-Isoprostane (F₂-Isop) resultierend aus der Arachidonsäure-Peroxidation [110] und Hydroxyfettsäuren (OHFA) als Marker der Peroxidation von einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren analysiert [122]. Erhöhte Spiegel dieser Marker im menschlichen Organismus wurden bereits mit verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren [113, 118, 119, 129] assoziiert, bei CVD-Patienten nachgewiesen [46, 104] oder direkt in arteriosklerotischen Läsionen detektiert [48, 112, 126].

Interventionseffekt

Im Studienverlauf zeigten sich die ausgewählten Marker der Lipidperoxidation unverändert. Ausschließlich F₂-Isop sank im chronologischen Verlauf der Blutabnahmen von 29,6 (28,8; 30,4) ng/l auf 27,0 (26,3; 27,6) ng/l. Moore & Roberts [108] beobachteten bei der Analyse von frischen und mehrmonatigen bei -20 °C verwahrten Plasmaproben bei den Letzteren eine höhere Isoprostan-Konzentration, die auf eine nicht-enzymatische Autoxidation der Arachidonsäure im Plasma zurückgeführt wurde. Dieses Ergebnis könnte trotz der Probenaufbewahrung bei -80 °C erklären, weshalb die ersten Plasmaproben aus der vorliegenden Studie mit folglich längerer Lagerzeit bis zur gemeinsamen Messung aller Blutproben nach Studienabschluss eine geringfügig höhere Konzentration aufwiesen als die letzten Plasmaproben.

Olivenöleffekt

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten belegen, dass die Fettsäurezusammensetzung der Nahrung die Fettsäurekomposition im Körpergewebe vor allem in den Membranen sowie in den Lipoproteinen widerspiegelt und somit einen Einfluss auf die Resistenz gegenüber oxidativen Schädigungen im Organismus ausübt. So zeigen *in vitro* [381], Tier- [382] und Humanstudien [319, 383-385], dass nach einer MUFA-reichen oder speziell ölsäurereichen Diät die MUFA- bzw. Ölsäurekonzentration in den Lipoproteinen ansteigt. Da die Oxidation von Ölsäure, im Gegensatz zu Linol-, Linolen- und Arachidonsäure, in geringerem Umfang stattfindet, reduziert eine höhere Ölsäurekonzentration im LDL dessen Anfälligkeit gegenüber Oxidation. Dies äußert sich in einer reduzierten Bildung von CD sowie anderer Lipidperoxidationsprodukten. [319, 383-385] Des Weiteren resultiert die Oxidation von Ölsäure in relativ stabilen Produkten [319], wohingegen die Oxidationsprodukte der Linol- und Arachidonsäure eine bioaktive Wirkung zeigen können [383, 386]. So konnte Tsimikas *et al.* [383] nach achtwöchigem Verzehr einer ölsäurereichen Diät durch

gesunde Probanden zum einen zeigen, dass sich die Ölsäurekonzentration in den LDL-Partikeln erhöhte und zum anderen, dass diese Partikel die Chemotaxis von Monozyten und deren Adhäsion an Endothelzellen um jeweils 52 % und 77 % im Vergleich zu linolensäurereichen LDL-Partikeln reduzierte. Ebenfalls an gesunden Probanden beobachteten Mata und Kollegen [387] nach fünfwöchiger MUFA-reichen Diät eine höhere *ex vivo* LDL-Resistenz gegenüber oxidativen Modifikationen und eine niedrigere LDL-induzierte Monozytenadhäsion an Endothelzellen im Vergleich zu hohen SFA- und PUFA-Anteilen in der Ernährung.

Anhand dieser Ergebnisse hätte vermutet werden können, dass sich die veränderte Fettsäurekomposition in der Phase mit Olivenölverzehr auf die analysierten Lipidperoxidationsmarker auswirkt. Bei den gesunden Männern in der vorliegenden Studie hatte jedoch die Integration des Olivenöles in die habituelle Ernährungsweise keine Beeinflussung von oxLDL, OLAB, CD, OHFA und F₂-Isop zur Folge. Die ausbleibende Wirkung könnte auf der Tatsache beruhen, dass die beschriebenen Ergebnisse Vergleiche zwischen einer ölsäure- und linolensäurereichen bzw. MUFA- und PUFA-reichen Diät dokumentieren und sich in der vorliegenden Studie im Interventionszeitraum die MUFA-Zufuhr zu Lasten der SFA-Zufuhr erhöhte, jedoch die PUFA-Aufnahme annähernd gleich blieb.

Phenoleffekt

Ergebnisse aus *in vitro* [16, 17, 252, 256] und Tierstudien [257, 259, 260] deuten darauf hin, dass die phenolischen Verbindungen im Olivenöl LDL vor oxidativen Modifikationen schützen. Nach Esterbauer [261, 262] soll die Konzentration von Antioxidantien im LDL den Umfang der oxidativen Modifikation des LDL-Partikels bestimmen. Dieser beschrieb die Kinetik der induzierten LDL-Oxidation in den drei aufeinanderfolgenden Phasen Lag-Phase, Propagationsphase und Dekompositionsphase (siehe Abb. 8.1).

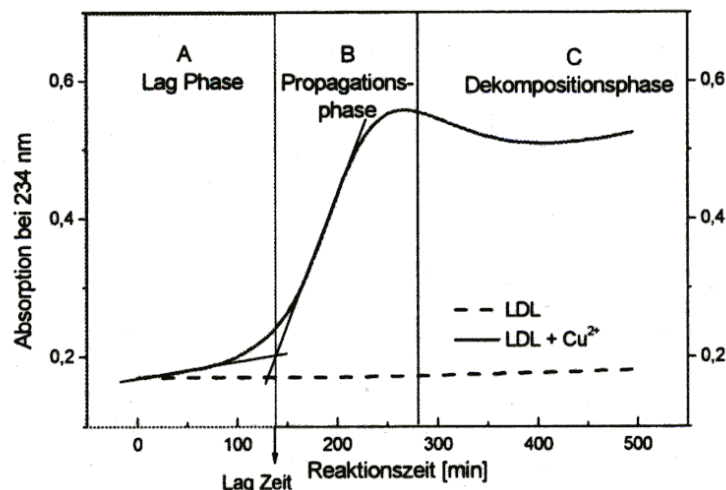


Abb. 8.1: Verlauf der Kupfer-induzierten Bildung konjugierter Diene im LDL-Partikel [modifiziert nach 262]

In der Lag-Phase werden die endogenen Antioxidantien verbraucht, was in einer langsam fortschreitenden Oxidation resultiert. Die Bildung konjugierter Diene nimmt in der Propagationsphase stark zu und erreicht ihr Maximum. In der Dekompositionsphase unterliegen die konjugierten Diene Abbaureaktionen u.a. zu Aldehyden, Alkoholen und Epoxiden.

In der Lag-Phase reagieren die Antioxidantien im LDL mit den Lipidperoxyradikalen und überführen diese in einen nichtradikalischen Zustand. Folglich wird die Propagationsphase gehemmt. Mit abnehmender Konzentration der Antioxidantien im LDL nimmt der Umfang der Kettenreaktion zu, bis es eine maximale Autoxidationsrate erreicht. Der Gehalt an Lipidhydroperoxiden im LDL ist maximal, wenn 70 - 80 % der PUFA oxidiert sind. Daran schließt sich die Dekompositionsphase, in der die Abbaureaktionen von Lipidhydroperoxiden im LDL u.a. zu Aldehyden, Alkanen und Alkoholen überwiegen. Je länger die Lag-Phasenverschiebung ausfällt, desto besser ist das antioxidative Potential der Testsubstanz. So wie die Fettsäurekomposition der Nahrung sich in den LDL-Partikeln widerspiegelt, konnten Studien belegen, dass bereits nach einwöchigem Verzehr von 25 ml phenolreichem Olivenöl die Phenolkonzentration in den LDL signifikant steigt [385, 388]. Basierend auf diesen Beobachtungen, der von Esterbauer beschriebenen Kinetik der LDL-Oxidation und der in *in vitro* und in Tierstudien dokumentierten antioxidativen Wirkung der Olivenölphenole, könnte angenommen werden, dass mit steigender Aufnahme phenolischer Verbindungen die LDL-Oxidation auch *in vivo* gehemmt wird.

In der vorliegenden Studie konnte dies jedoch nicht gezeigt werden. Der **oxLDL**-Spiegel im Serum sowie die Bildung entsprechender Antikörper konnte durch den jeweils dreiwöchigen Verzehr des gemischten und nativen Olivenöles nicht gesenkt werden. Interventionsstudien einer spanischen Arbeitsgruppe an gesunden jungen Männern zeigten jedoch, dass ein dreiwöchiger [310] sowie bereits ein viertägiger [311] Verzehr von 25 ml Olivenöl mit keinem, mittlerem und hohem Phenolgehalt eine von der Phenolkonzentration abhängige oxLDL-Senkung im Plasma bewirkte. Ebenfalls bei Männern mit stabiler KHK resultierte ein dreiwöchiger Verzehr von täglich 50 ml nativem Olivenöl im Vergleich zu raffiniertem Olivenöl in einer Reduktion des oxLDL-Spiegels [294]. Studien zu den postprandialen Effekten der Olivenölphenole bei gesunden Männern zeigten konträre Ergebnisse. Nach einmaliger Applikation von 25 ml Olivenöl mit drei verschiedenen Phenolkonzentrationen blieb der oxLDL-Spiegel unverändert [246, 311], nach 40 ml stieg jedoch die oxLDL-Konzentration bei phenolfreiem Olivenöl [389]. Eine postprandiale oxLDL-Reduktion innerhalb der ersten 6 Stunden nach Olivenölverzehr mit mittlerem und hohem Phenolgehalt konnte erst beobachtet werden, wenn ein viertägiger Olivenölverzehr voran ging [311].

Der ausbleibende Phenoleffekt auf den **OLAB**-Spiegel in der hier beschriebenen Studie befindet sich im Einklang mit den Ergebnissen von Marrugat *et al.* [310] und Fito *et al.* [294]. Bei Männern mit stabiler KHK als auch bei Gesunden zeigte ein dreiwöchiger Ölkonsum mit unterschiedlichem Phenolgehalt keinen Einfluss. Einzig eine postprandiale Senkung der OLAB-Konzentration nach 40 ml gemischtem sowie nativem Olivenöl konnte eruiert werden [389]. Die große interindividuelle Variabilität der Messwerte wurde neben der vorliegenden auch in anderen Studien beobachtet [310, 390], was den fehlenden Phenoleffekt erklären könnte. Ferner sollte erwähnt werden, dass die Datenlage bezüglich der klinischen Signifikanz von OLAB aus Tier- und Humansstudien inkonsistent ist [46, 99]. Außerdem ist noch fraglich, ob die Immunantwort auf oxLDL proatherogen oder antiatherogen *in vivo* wirkt [391]. Es wurde die Hypothese generiert, dass die physiologische Rolle der OLAB das Entfernen von oxLDL aus der Blutzirkulation und

möglicherweise auch aus der Arterienwand umfasst [99]. Dementsprechend wurde eine inverse Korrelation zwischen OLAB und oxLDL bei gesunden Probanden beobachtet [392] sowie eine verminderte Aufnahme von oxLDL durch die Makrophagen aufgrund blockierter Bindungsmöglichkeit zum Scavenger-Rezeptor [393, 394]. Aber ebenso wurde für einige spezifische oxLDL-Antikörper Gegenteiliges berichtet [99, 395]. Möglicherweise spielt in den verschiedenen Stadien der Arterioskleroseentstehung die OLAB-Bildung eine unterschiedliche Rolle [99].

Die **CD**-Konzentration im LDL ist ein Indikator für die Oxidation von zirkulierenden LDL-Partikeln [106]. Die Isomerisierungsreaktion im Lipidalkylradikal, bei der eine isolierte Doppelbindung in eine konjugierte Doppelbindung überführt wird, findet direkt nach der Initiationsreaktion und somit frühzeitig im Geschehen der Lipidperoxidation statt [49]. Die Konzentration von CD wurde in vorangegangenen Interventionsstudien, die den Einfluss der Olivenölphenole untersuchten, ausschließlich bei der *ex vivo* LDL-Oxidation ermittelt. Dabei wird meist die Länge der Lag-Phase, die Konzentration der CD im LDL und die Oxidationsrate (mol CD/ min/ mol LDL) gleichzeitig ermittelt. Eine Verlängerung der Lag-Phase bis zur exponentiell zunehmenden CD-Bildung sowie einen verminderten CD-Gehalt im LDL zeigte sich nach extra nativem Olivenölverzehr bei gesunden Männern und Frauen [304, 385, 396]. Eine längere Lag-Phase, jedoch ohne Beeinflussung der CD-Konzentration, wurde bei Hyperlipidämie Patienten beobachtet, die über vier Wochen täglich 20 g extra natives Olivenöl in ihre Ernährung integrierten [277]. Marrugat *et al.* [310] ermittelte sogar eine positive Assoziation zwischen aufgenommener Menge an Phenolen aus dem Olivenöl und Verlängerung der Lag-Phase der LDL-Oxidation, während sich die maximale CD-Konzentration und die Oxidationsrate davon unabhängig zeigte. Eine höhere LDL-Resistenz gegenüber oxidativen Modifikationen konnte auch postprandial nach Einnahme von 50 ml extra nativem phenolreichen Olivenöl nachgewiesen werden, was sich in der Zunahme der Lag-Phase und Oxidationsrate äußert [279, 304]. Beim Vergleich der polaren mit der unpolaren Phenolfraction zeigte ausschließlich der Verzehr des polaren Phenolextraktes, vorwiegend OHT, T und Oleuropein-Aglykon enthaltend, eine postprandiale Verlängerung der Lag-Phase [279]. In *ex vivo* Versuchen wiesen die Olivenölphenole bezüglich der LDL-Oxidation sogar ein höheres antioxidatives Potential auf als α -Tocopherol [16, 17]. In der vorliegenden Studie wurde die *in vivo* CD-Bildung im LDL durch die vermehrte Phenolaufnahme jedoch nicht beeinflusst. Dieses Ergebnis findet ausschließlich durch die Studie von Moschandreas *et al.* [397] Bestätigung, bei der ebenfalls ein dreiwöchiger Verzehr eines phenolreichen Olivenöles die *ex vivo* CD-Bildung im LDL nicht reduziert sowie die Lag-Phase nicht verlängert.

Neben der direkten Bestimmung von Lipidhydroperoxiden kann auch anhand der daraus resultierenden **OHFA** der Grad der Lipidperoxidation eruiert werden. Bei den C₁₈-Fettsäuren Ölsäure, Linolsäure und Linolensäure können die Hydroxygruppen an verschiedenen Stellen im Molekül eingefügt werden. So bildet unter Oxidationsbedingungen die Ölsäure die Ausgangssubstanz für 8-, 9-, 10- und 11-OHFA, die Linolsäure für 9-, 10-, 12- und 13-OHFA und

die Linolensäure für 9-, 10- 12-, 13- 15- und 16-OHFA. Dabei umfasste der Nachweis im Plasma freie sowie veresterte Formen und wurde als gesamt C₁₈-OHFA berechnet. [122] Essentiell für die Analyse war dabei die Nüchternblutabnahme, da eine OHFA-reiche Ernährung die Plasmaspiegel beeinflusst [398].

In der vorliegenden Studie konnte die OHFA-Konzentration im Plasma aufgrund der unterschiedlichen zugeführten Phenolmengen über das Olivenöl nicht beeinflusst werden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegt keine vergleichbare Interventionsstudie vor, die ebenso den Einfluss der Olivenölphenole auf den Lipidperoxidationmarker OHFA untersucht. Der ausbleibende Phenoleffekt könnte möglicherweise auf die Probandenauswahl zurückzuführen sein (relativ junge, gesunde, normalgewichtige Personen). Im Vergleich zu Normalgewichtigen konnte bei adipösen Probanden, einem Hauptrisikofaktor für KHK, ein deutlich höherer OHFA-Plasmaspiegel eruiert werden. Nach einer vierwöchigen Gewichtsreduktion sanken die Plasmagehalte von 9- und 13-Hydroxy-Linolsäure jedoch signifikant. [129] Ebenso wurde bei Patienten mit arteriosklerotischen Erkrankungen ein höherer 9-Hydroxy-Linolsäure-Gehalt im LDL festgestellt als bei Gesunden. Bei jungen Patienten war die Konzentration um das 20-fache höher im Vergleich zu jungen gesunden Probanden. Während im fortgeschritteneren Alter (69 - 94 Jahre) der OHFA-Gehalt im LDL 30- bis 100-fach höher war als bei jungen Gesunden, war dieser bei gleichaltrigen Kontrollen nur noch 2- bis 3-fach höher. [130] Des Weiteren wurde mit zunehmendem Alter eine steigende OHFA-Konzentration im LDL ermittelt [399].

F₂-Isop ist ein spezifisches Endprodukt der Arachidonsäure-Peroxidation und wird häufig als der geeignete Biomarker der Lipidperoxidation beschrieben [62, 111]. Diese können in veresteter Form vorliegen, sofern die oxidierte Arachidonsäure z.B. verestert an Phospholipide war. Durch die Enzymaktivität der Phospholipase werden F₂-Isop in die freie Form überführt. [70, 111, 300] Die Analyse der F₂-Isop in der vorliegenden Studie berücksichtigte ausschließlich die freie Form im Plasma. Isoprostane sind ebenfalls in Lebensmitteln nachweisbar, diese werden im Magen-Darm-Trakt jedoch nicht ausreichend resorbiert, um die Konzentrationen in Blut und Urin zu beeinflussen [400, 401]. Ferner soll laut Helmersson & Basu [402] sowie Kanabrocki *et al.* [403] die F₂-Isop-Konzentration Tagesschwankungen unterliegen sowie von Tag zu Tag variieren, was auf Veränderungen der oxidativen Stresssituation im Organismus zurückgeführt wird [62]. Im Rahmen dieser Studien blieben die F₂-Isop-Spiegel im Blut jedoch annähernd konstant und zeigten sich zusätzlich unabhängig von der Menge der aufgenommenen Olivenölphenole. Ein ausbleibender Phenoleffekt wurde ebenfalls in vorherigen Studien bei gesunden Männern [311] und bei Patienten mit Stoffwechsellstörungen [404, 405] beschrieben. Des Weiteren konnte auch postprandial nach einer 25 ml-Applikation verschiedener Öle kein im Zusammenhang zum Phenolgehalt veränderter F₂-Isop-Plasmaspiegel eruiert werden [246, 311]. Ausschließlich Visioli *et al.* [280] beschrieb eine inverse Assoziation zwischen der postprandialen renalen F₂-Isop-Exkretion und der verzehrten Phenolkonzentration. Beim Konsum anderer phenolreicher Lebensmittel, wie Kakao oder grüner Tee, konnte ebenfalls die Bildung von F₂-Isop durch die Phenole nicht inhibiert werden [406, 407]. Jedoch zeigten Supplementierungen der habituellen

Ernährung mit hohen Dosen von antioxidativen Vitaminen (z.B. Vitamin E, C und β -Carotin) eine Reduzierung von 25 - 37 % [408]. Als Referenzwert für die Plasmakonzentration der F₂-Isop wurde von Abuja & Albertini [70] 30 - 40 ng/l angegeben, was ungefähr der Angabe von Morrow & Roberts [300] mit 35 ± 6 ng/l entspricht. Die ermittelten Werte in der vorliegenden Studie liegen an der unteren Grenze dieser Referenzwerte oder geringfügig darunter, was darauf zurückzuführen sein könnte, dass ausschließlich die freien F₂-Isop-Formen im Plasma analysiert wurden.

8.7 Endogene Antioxidantien

Durch endogene Bildung antioxidativ wirkender Substanzen und Enzyme ist der Organismus in der Lage, oxidativen Stresssituationen entgegenzuwirken und den Redox-Status auszubalancieren. Folglich können oxidative Modifikationen von Lipiden und damit einhergehende pathogene Geschehen verzögert oder sogar verhindert werden. Eine niedrige Aktivität der antioxidativ wirkenden Enzyme Paraoxonase (PON), Superoxid Dismutase (SOD), Glutathion-Peroxidase (GSH-Px) und Glutathion-Reduktase (GSSG-Rd) sowie eine verminderte Konzentration von Glutathion konnte bereits bei kardiovaskulär erkrankten Personen oder bei anderen mit oxidativem Stress assoziierten Erkrankungen nachgewiesen werden [140, 150, 151, 157, 409].

Interventionseffekt

Die Enzymaktivitäten von GSH-Px, GSSG-Rd und PON blieben im chronologischen Studienverlauf unverändert. Jedoch zeigte sich von Baseline bis zum Studienende bei SOD und oxidiertem Glutathion (GSSG) eine Reduktion und bei reduziertem Glutathion (GSH) sowie dem Verhältnis GSH/GSSG ein Anstieg. Weshalb sich diese Biomarker im Studienverlauf veränderten, kann nicht eindeutig beantwortet werden. Denkbar wären aufgrund der relativ langen Studiendauer von Januar bis Mai eventuelle jahreszeitliche Veränderungen und damit einhergehende veränderte Lebensstilfaktoren. Ebenso könnte eine unterschiedlich lange Lagerzeit der Proben bis zur Analyse eine Ursache sein, denn diese wurden bis zum Ende der Studie gesammelt und geschlossen analysiert. Des Weiteren wäre ein Übungseffekt bei der Probenaufarbeitung denkbar, der sich auf den Umfang möglicher Autoxidationsreaktionen in der Probe auswirken könnte und somit eine Beeinflussung der Ergebnisse bewirkt.

Olivenöleffekt

PON ist eine Arylesterase, die im HDL-Partikel an Phospholipide über die N-terminale Sequenz gebunden ist [410] und durch Apolipoprotein A-1 stabilisiert wird [411]. Die Bindung von PON an den HDL-Partikel könnte erklären, weshalb ein erhöhter HDL-Spiegel mit einem niedrigeren kardiovaskulären Risiko assoziiert ist [1]. PON schützt durch Hydrolyse von Lipidperoxiden [412-415] nicht nur LDL sondern ebenso HDL vor oxidativen Schädigungen *in vitro* [167, 416] sowie im Tierversuch [417, 418]. Basierend auf verschiedenen Studienergebnissen [419-422] wird ein direkter Effekt der Nahrungslipide auf die PON-Aktivität in Betracht gezogen. So könnte eine ölsäurereiche Diät über eine gesteigerte HDL-Sekretion auch die PON-Aktivität erhöhen [420].

Nguyen & Sok [419] testeten die Wirkung verschiedener Fettsäuren auf die durch Ascorbat/ Cu^{2+} -induzierte PON-Inaktivierung. Dabei boten SFA zu 9 - 40 % und MUFA zu 70 - 82 % einen Schutz vor dieser Inaktivierung, wobei die Wirkung der Ölsäure als am effektivsten beschrieben wurde. Einen präventiven Effekt der PUFA konnte nicht erzielt werden. Beide Autoren gehen davon aus, dass diese Wirkung über die direkte Bindung an PON realisiert wird, wobei die geometrische Struktur einschließlich Anzahl und Position der Doppelbindungen der Fettsäure als maßgebend angesehen wird. Bei gesunden Männern resultierte der Verzehr einer MUFA-reichen Mahlzeit in einer postprandialen Erhöhung der PON-Aktivität um 16 % [423]. Auch der dreiwöchige Konsum von extra nativem Olivenöl hatte bei männlichen Probanden eine gesteigerte PON-Aktivität zur Folge [396]. Trotz der beschriebenen Resultate konnte in der vorliegenden Studie nach Olivenölverzehr und der damit einhergehenden höheren MUFA- und Ölsäureaufnahme keine Veränderung in der PON-Aktivität eruiert werden. Dieses Ergebnis könnte mit dem ebenso unveränderten HDL-Spiegel sowie oxLDL-Spiegel im Zusammenhang stehen (siehe Kapitel 8.5 und 8.6). Bei der Verzehrerhebung an 654 Männern von Tomas *et al.* [424] wurde eine Assoziation zwischen hoher Ölsäureaufnahme und hohem PON- und HDL-Spiegel eruiert. Darüber hinaus kamen die Autoren zu dem Schluss, dass der präventive Effekt der hohen Ölsäurezufuhr auf PON und HDL vorwiegend bei den Probanden ermittelt wurde, die auf dem R-Allel den PON-192 Polymorphismus aufwiesen. Inwieweit ein möglicher PON-Polymorphismus bei den eigenen Probanden ausschlaggebend für das vorliegende Studienergebnis sein könnte, bleibt an dieser Stelle unbeantwortet.

Die ubiquitär im Organismus vorkommende **SOD** stellt mit der von ihr katalysierten Dismutation von Superoxidanionen zu Wasserstoffperoxid und Sauerstoff eine erste Stufe der Prävention gegen oxidativen Stress dar [133, 134]. Damit schützt SOD außerdem die Funktion endogener Peroxidasen, da die Superoxidanionen verschiedene Peroxidasen wie GSH-Px inhibieren [425]. Aufgrund der Integration von Olivenöl in die habituelle Ernährung konnte die Aktivität dieses antioxidativen Enzyms nicht beeinflusst werden, gleichwohl wie bei PON auch für SOD in verschiedenen Studien von einem Einfluss der Nahrungslipide berichtet wurde. So resultierte die vierwöchige Applikation von nativem Olivenöl nach einer atherogenen fettreichen Diät in einer Steigerung der SOD-Aktivität im Tierversuch [426]. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Faine *et al.* [427], die zusätzlich eine effektivere SOD-Stimulierung nach Verabreichung von Olivenöl in Kombination mit einer Reduktionsdiät beobachteten. Bei den Empfängern von Nierentransplantaten in der Interventionsstudie von Stachowska *et al.* [428] wirkte sich die mediterrane Ernährungsweise mit integrierten 30 ml nativem Olivenöl ebenso günstig auf die SOD-Aktivität aus. Im Gegensatz dazu blieb bei Alarcon de la Lastra *et al.* [429] ein Effekt auf die SOD-Aktivität nach sechswöchigem extra nativem Olivenölverzehr aus. Des Weiteren zeigte die Verfütterung von Olivenöl im Vergleich zu Butter, Margarine, Maiskeimöl und Sonnenblumenöl keine veränderte SOD-Konzentration [430, 431]. Während bei Miret *et al.* [430] ein 16-wöchiger Olivenölverzehr SOD unbeeinflusst ließ, reduziert eine Diät reich an PUFA die SOD-Aktivität im Tiermodell. Die Autoren schlussfolgerten, dass der hohe PUFA-Anteil die Zunahme an

Lipidperoxidationsprodukten bedingt, was auch in anderen Tier- und Humanstudien beschrieben wurde [432, 433], und somit auf einen erhöhten oxidativen Stress hinweist. Freie Radikale sind laut Fujii & Taniguchi [434] in der Lage, die Expression verschiedener antioxidativer Enzyme zu mindern. Olivenöl im Gegenzug fördert die Lipidperoxidation nicht [432], was den Einfluss der Radikale auf die Genexpression reduzieren soll [430]. Wie dargestellt sind die Ergebnisse bezüglich des Einflusses der Nahrungslipide auf die SOD-Aktivität inkonsistent und lassen keinen eindeutigen Schluss zu.

Das Tripeptid **GSH** ist der bedeutenste nicht-enzymatische Regulator der Redox-Homeostase im menschlichen Organismus. Zum einen kann GSH direkt mit radikalischen Verbindungen reagieren und somit als Radikalfänger wirken und zum anderen indirekt als Cosubstrat durch kovalente Bindung beispielsweise an **GSH-Px** Hydroperoxide, Wasserstoffperoxide und elektrophile Verbindungen unter Bildung von Glutathiondisulfid (**GSSG**) detoxifizieren. Basierend auf oxidativen Stressbedingungen vermindert sich der GSH-Spiegel und es erhöht sich der Anteil von potentiell zytotoxischen GSSG in der Zelle, was in einer Verschiebung des Thiol Redox-Status mündet. GSSG wird entweder aus der Zelle sekretiert und extrazellulär abgebaut, dies aktiviert die zelluläre de novo-Synthese von GSH, oder durch die **GSSG-Rd** direkt wieder zu GSH reduziert. Die Regenerierung von GSH durch GSSG-Rd ist grundlegend zur Aufrechterhaltung der GSH-abhängigen Schutzmechanismen. [146] Die Berechnung des **GSH/GSSG Verhältnisses** liefert ein weiteres Bild vom Ausmaß der oxidativen Stresssituation [72].

Bei der Analyse von GSH und GSSG können Autoxidationsreaktionen von GSH zu einer fälschlich erhöhten GSSG-Konzentration führen. Folglich sind aussagekräftige Ergebnisse nur bei sofortiger Stabilisierung der Blutproben mit N-Ethylmaleimid und unverzüglichem Einfrieren der Proben gewährleistet [72, 435], worauf bei der Probenaufarbeitung speziell geachtet wurde.

Die Tatsache, dass Olivenöl in die habituelle Ernährung der Probanden aufgenommen wurde, resultierte in keiner Veränderung der GSH-abhängigen Enzyme GSH-Px und GSSG-Rd sowie GSSG und dem GSH/GSSG Verhältnis. Einzig der GSH-Spiegel konnte durch den Konsum des Olivenöles beeinflusst werden. In beiden Untersuchungszeiträumen ist eine Zunahme der GSH-Konzentration zu verzeichnen. Diese fällt jedoch nach Olivenölverzehr geringer aus als in den Wochen ohne Olivenöl. Im Gegensatz dazu brachte der Ersatz von 10 % der Gesamtfettzufuhr mit nativem Olivenöl im Vergleich zu Fischöl und Sonnenblumenöl im Fütterungsversuch mit Ratten eine Erhöhung des GSH-Spiegels [426]. Ebenfalls eine Zunahme der GSH-Konzentration konnte bei Nierentransplantatempfängern beobachtet werden, die sich über sechs Monate mediterran inklusive täglichen 30 ml nativem Olivenöl ernährten. Gleichzeitig wurde bei diesen Probanden eine verminderte GSH-Px-Aktivität in den Erythrozyten festgestellt. [428] Eine solche mindernde Wirkung konnte ebenso Faine *et al.* [427] durch einmonatige Verfütterung von Olivenöl an Versuchstieren beobachten. Von einer unveränderten GSH-Px-Aktivität nach Olivenölapplikation berichteten Allard *et al.* [432] und Ergun *et al.* [431]. Im Gegensatz dazu wurde in einigen Studien auch ein positiver Zusammenhang postuliert [267, 429, 436]. So zeigte de la Cruz *et al.* [267], dass der Ersatz einer hyperlipidämischen SFA-reichen Kost mit 10 % Olivenöl

für sechs Wochen das Verhältnis Gesamtglutathion/GSSG sowie die GSH-Px-Aktivität in Leber, Gehirn, Herz, Aorta und Thrombozyten in Kanninchen ansteigen lässt, was durch Alarcon de la Lastra *et al.* [429] Bestätigung fand. Eine Stimulation der GSSG-Rd-Aktivität erfuhren gesunde Probanden bereits nach einwöchiger Applikation von 25 ml extra nativem Olivenöl, jedoch nur eine tendenzielle nicht signifikante Erhöhung der GSH-Px-Aktivität [304].

Studien, die den Einfluss eines hohen PUFA-Anteils in der Nahrung im Vergleich zu MUFA untersuchen, zeigen ebenso konträre Resultate. So postulierten verschiedene Arbeitsgruppen eine Verminderung von GSH, GSH-Px und GSSG-Rd [425, 430, 437], eine Erhöhung von GSSG und GSH-Px [436-439] sowie keinen Effekt auf GSH-Px und GSSG-Rd [432, 437, 438] nach einer PUFA-reichen Diät.

Der Zusammenhang zwischen Olivenölverzehr bzw. einer gesteigerten MUFA-Aufnahme und GSH, GSSG und deren Verhältnis wurde im Rahmen von Humanstudien bisher gar nicht oder nur geringfügig untersucht, obwohl Ashfaq *et al.* [409] den GSH Redox-Status als unabhängigen Prediktor frühzeitiger Arterioskleroseentwicklung beschrieb. Laut Wu und Kollegen [152] liegt das GSH/GSSG Verhältnis über 10 unter normalen physiologischen Bedingungen. Der Blick auf die vorliegenden Verhältniszahlen zeigt, dass die von 3,73 bis 7,24 variierenden Werte deutlich darunter liegen. Dies könnte möglicherweise auf unterschiedliche Analysemethoden zurückzuführen sein, denn der Vergleich anderer oxidativer Stressmarker z.B. F₂-Isop mit Referenzwerten deutete nicht darauf hin, dass die Probanden einer erhöhten oxidativen Stresssituation ausgesetzt waren, was schließlich auch die Ausschlusskriterien bei der Probandenrekrutierung gewährleisten sollten.

Weshalb der Olivenölverzehr sich ausschließlich auf GSH auswirkte während GSSG und die GSH-abhängigen Enzyme unverändert blieben, kann aufgrund der raren und gleichzeitig divergenter Datenlage nicht eindeutig beantwortet werden. Massaro & de Caterina [440] generierten die Hypothese, dass sich die Wirkung der Ölsäure auch unabhängig von der Modulation der Enzymaktivität entfalten könnte. So könnte die Ölsäure vorzugsweise mit Superoxidanionen reagieren, was zwar in einer erhöhten Konzentration an Lipidperoxiden mündet, aber die Bildung von Wasserstoffperoxid aus Superoxidanionen reduziert. Wasserstoffperoxid ist verantwortlich für die Aktivierung des proinflammatorischen Transkriptionsfaktors NFκB [441, 442], der die Expression von Zytokinen, Adhäsionsmolekülen, Wachstumsfaktoren, Immunorezeptoren und Akutphaseproteine induziert [69, 443]. Durch die Suppression dieses Reaktionsweges könnte die Ölsäure vaskuläre inflammatorische Reaktionen inhibieren und somit unabhängig von der Modulation der Enzymaktivität antiatherogen wirken.

Phenoleffekt

Experimentelle Daten deuten darauf hin, dass die Phenole auch eine indirekte antioxidative Wirkung durch die Aktivierung des endogenen Schutzsystems im Organismus ausüben [146]. Als mögliche Mechanismen, durch die diätetische Antioxidantien Einfluss nehmen können, wird zum einen die Aktivierung der mRNA Expression antioxidativer Enzyme und zum anderen die Reduktion der oxidativen Stresssituation im Organismus diskutiert [157, 263, 434]. Eine

Verschiebung des Redox-Status zu Gunsten der ROS kann zu einer Inaktivierung antioxidativer Enzyme führen, wie das bereits bei PON [415, 444] und GSH-Px [434] gezeigt werden konnte (siehe Abbildung 8.2). Folglich können Antioxidantien vor dieser Inaktivierung schützen, indem diese der oxidativen Stresssituation entgegenwirken.

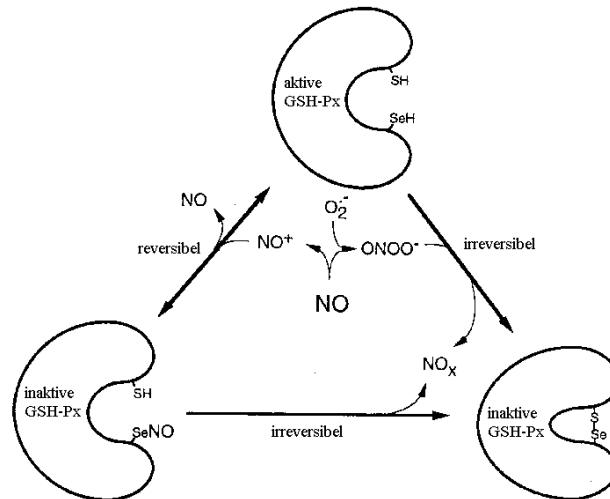


Abb. 8.2: Postulierter Mechanismus der NO-vermittelten Glutathion-Peroxidase Inaktivierung [modifiziert nach 434]

Die GSH-Px besitzt im aktiven Zentrum die für die Enzymaktivität essentielle Aminosäure Selenocystein. Durch Nitrosation am Selenatom der Aminosäure wird das Enzym inaktiviert, was durch reduzierende Substanzen wieder rückgängig gemacht werden kann. Des Weiteren wird das aktive Zentrum durch Peroxinitrit unter einer Sulfur-Selen-Brückenbildung inaktiviert. Der Inaktivierung der GSH-Px folgt ein erhöhter Peroxidlevel und somit eine Verschiebung des Redox-Status zu Gunsten reaktiver Spezies. Abkürzungen: GSH-Px - Glutathion-Peroxidase, NO⁺ - Stickstoffmonoxidradikal, ONOO⁻ - Peroxinitrit

Aufgrund des dreiwöchigen Verzehrs der drei Olivenöle konnte bei den gesunden Männern in Abhängigkeit vom Phenolgehalt bei der **PON**-Aktivität kein Unterschied festgestellt werden. Vergleichbare Interventionsstudien, die ebenso die Wirkung der Phenole aus dem Olivenöl auf die PON-Aktivität untersuchen, liegen zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht vor. Jedoch konnte in Studien mit anderen phenolischen Testsubstanzen ein Einfluss auf die PON-Aktivität nachgewiesen werden. Einer durch ROS verursachten Inaktivierung des Enzyms wurde durch Flavonoide unterschiedlichen Lebensmittelursprungs [414, 445] sowie durch Vitamin C und E [446-448] entgegengewirkt. Die Erhöhung der PON-Expression zeigte sich bei Inkubation von HuH7-Zellen mit den Phenolen Quercetin und Resveratrol über einen Arylkohlenwasserstoff-abhängigen Mechanismus [449, 450]. Bei Vitamin-E-Applikation im Tiermodell blieb eine solche Interaktion dagegen aus [447].

Ebenso wie bei PON hat sich die Aktivität von **SOD** in Abhängigkeit von den verzehrten Phenolen im Olivenöl nicht verändert. Studien, die die Wirkung der Phenole aus dem Olivenöl auf dieses antioxidative Enzym untersucht haben, sind auch hier nur spärlich vorhanden. Entsprechend den

eigenen Ergebnissen konnte im Versuchstier nach jeweils achtwöchiger Applikation eines phenolreichen sowie phenolarmen Olivenöles keine Beeinflussung des SOD-Spiegels eruiert werden [451]. Phenolreiche Extrakte aus grünen und schwarzen Oliven kombiniert mit einer cholesterinreichen Diät hatten bei Ratten im Gegensatz dazu eine Stimulation der SOD-Aktivität zur Folge [374]. Auch für andere phenolische Verbindungen konnte basierend auf *in vitro* [452-455] und Tierstudien [456-459] eine steigernde Wirkung auf die Enzymaktivität ermittelt werden. Unlängst beschrieben Yeh & Yen [458], dass aufgrund der jeweils zweiwöchigen Applikation der Phenolsäuren Gallussäure, Ferulasäure und p-Coumarinsäure der Gehalt an hepatischer SOD im Tiermodell zunimmt, was für die Ferulasäure zuvor von Balasubashini *et al.* [459] beobachtet wurde. Des Weiteren erhöhte in der durch Toxine induzierten oxidativen Stresssituation im Tierversuch das Flavonoid Hesperidin sowie ein phenolreicher Schwarzteeextrakt die SOD-Aktivität [456, 457]. Ebenfalls in Zellen, die oxidativen Stressbedingungen ausgesetzt waren, wurde nach Inkubation mit Procyanidinen [455], Resveratrol [453] und Polyphenolen aus grünem Tee [452] eine Zunahme von SOD erzielt. Ferner wurde ein genregulatorischer Einfluss auf die Expression von SOD durch das Flavanol Quercetin in HepG2-Zellen postuliert. Dabei wurde SOD bei Inkubation mit niedriger Konzentration von Quercetin (0,1 - 1 μM) vermindert und bei hoher Konzentration (50 - 100 μM) verstärkt exprimiert. [454]

Der Phenolgehalt in den konsumierten Olivenölen hatte ebenfalls keine Auswirkung auf GSH, GSSG, deren Verhältnis sowie GSH-Px. Ausschließlich **GSSG-Rd** zeigte eine phenolabhängige Aktivitätsveränderung. Der dreiwöchige Verzehr des raffinierten und gemischten Olivenöles führte bei den gesunden Männern zu einer Senkung der Aktivität, wobei diese nach raffiniertem Öl stärker ausfiel. Dagegen erhöhte das phenolreiche native Öl die Aktivität der GSSG-Rd im Blut. Eine Zunahme der GSSG-Rd durch phenolische Substanzen wurde bisher nur in *in vitro* Studien beschrieben. So ermittelte Li *et al.* [453], dass die Inkubation von glatten Muskelzellen mit Resveratrol mit einer gesteigerten GSSG-Rd-Aktivität einherging. In Makrophagen-ähnlichen Zellen stimulierte Oleuropein die Expression von GSSG-Rd [263]. Im Gegensatz dazu hatte eine achtwöchige Fütterung von phenolarmen und phenolreichen Olivenöl im Tierversuch keine Auswirkung auf die Enzymaktivität von GSSG-Rd [451]. Auch dem Verzehr flavonreicher Petersilie durch gesunde Probanden folgte keine Veränderung von GSSG-Rd [460].

GSH-Px wurde im Zusammenhang mit Olivenöl und dessen typischen phenolischen Komponenten häufiger im Vergleich zu GSSG-Rd untersucht, jedoch ebenso mit divergenten Ergebnissen. So bewirkte die Inkubation von Prostatazellen mit OHT eine Erniedrigung des Gehaltes der GSH-Px mRNA, während T diese erhöhte [274]. Ebenfalls nach Inkubation von Makrophagen-ähnlichen Zellen mit Oleuropein wurde GSH-Px verstärkt exprimiert [263]. In C12-Zellen hat die Inkubation mit OHT keine Modifikation der GSH-Px-Aktivität zur Folge [461]. Auch in Abhängigkeit vom Phenolgehalt konnte im Tierversuch nach Verfütterung zweier Olivenölsorten kein veränderter GSH-Px-Spiegel beobachtet werden [451], was mit dem eigenen Ergebnis konform geht. Im Gegensatz dazu ermittelten Ochoa-Herrera *et al.* [462] bei Kaninchen eine höhere GSH-Px-Aktivität nach phenolreichem im Vergleich zu phenolarmem Olivenöl. Ebenso wurde eine

höhere Aktivität bei Männern mit KHK erzielt, wenn diese für 3 Wochen täglich 50 ml natives Olivenöl konsumierten [294]. Weinbrenner und Kollegen [311] beobachteten darüber hinaus eine in Abhängigkeit vom Phenolgehalt der applizierten Olivenöle gestiegene postprandiale GSH-Px-Aktivität. Studien mit Resveratrol [453], Quercetin [454], Phenolsäuren [458, 459], Phenolen aus Rotwein [463], Petersilie [460] und schwarzem Tee [457] belegen, dass auch andere phenolische Komponenten stimulierend auf die GSH-Px-Aktivität wirken können.

Ebenso wie GSSG-Rd sind **GSH** und **GSSG** sowie deren **Verhältnis** gar nicht oder nur geringfügig im Zusammenhang mit Olivenölphenolen bisher untersucht worden. In C12-Zellen beeinflusste die Inkubation mit OHT die GSH-Konzentration nicht [461], was auch das vorliegende Resultat widerspiegelt. Indessen induziert OHT in Mikrosomen der Rattenleber die GSH-Synthese [464]. Dagegen hatte die zweiwöchige Applikation verschiedener Phenolsäuren bei Ratten eine Minderung des hepatischen GSH-Gehaltes und eine Erhöhung von GSSG zur Folge [458]. Der überwiegende Teil der publizierten *in vitro* und Tierstudien berichtete jedoch von einer Zunahme der GSH-Konzentration, so beschrieben beim Flavanol Quercetin [454, 465, 466], Flavonoid Hesperidin [456], Vitamin E [448] und den Phenolen aus dem Granatapfel [467]. Myhrstad *et. al.* [466] demonstrierte *in vitro*, dass die Erhöhung der GSH-Aktivität auf der verstärkten Transkription der γ -Glutamylcystein-Synthase, einem zur GSH-Synthese notwendigen Enzym [152], beruht.

In Anbetracht dessen, dass in der beschriebenen Interventionsstudie die Olivenölphenole auf keinen Biomarker der Lipidperoxidation sowie den GSH-Status und die antioxidativen Enzyme GSH-Px, PON und SOD eine Wirkung ausübten, könnte die mit dem Phenolgehalt einhergehende Erhöhung der GSSG-Rd-Aktivität als unwillkürliche Veränderung eingestuft werden. Die Analyse einer vielfältigen Auswahl an Biomarkern sollte den Zweck erfüllen, einen umfassenden Einblick in das mögliche antioxidative Wirkungsspektrum der phenolischen Verbindungen aus dem Olivenöl *in vivo* zu erhalten. Oxidativer Stress resultiert aus der Imbalance einer Vielzahl an Oxidantien und Antioxidantien, folglich scheint die alleinige Veränderung eines Parameters nicht eine Beeinflussung des Redox-Systems widerzuspiegeln [149]. Derzeit kann nicht geklärt werden, warum eine Phenolwirkung ausschließlich bei einem antioxidativen Enzym erzielt wurde, während andere Marker keine Veränderung erfuhren.

Weshalb die phenolischen Komponenten aus dem Olivenöl keinen Einfluss auf die analysierten Marker *in vivo* ausübten, wobei *in vitro* und Tierstudien antioxidative Effekte dokumentieren, kann nur hypothetisch beantwortet werden. Zunächst sollte ein möglicher Publikationsbias in Betracht gezogen werden, der aus der überwiegenden Publikation positiver Ergebnisse aus *in vitro* und Tierstudien resultiert. Nur wenige Studien wurden veröffentlicht, bei denen keine antioxidative Phenolwirkung beschrieben wurde. [9]

Eine weitere Ursache könnte in der Probandenauswahl der vorliegenden Studie liegen. So führten verschiedene mit erhöhtem oxidativen Stress assoziierte Faktoren, wie beispielweise Übergewicht [129], Rauchen [324, 325], erhöhte körperliche Aktivität [287, 327] und verschiedene

Erkrankungen [56, 64], bei der Probandenrekrutierung zum Ausschluss. Eventuell könnten die Phenolwirkungen bei Personen, die erhöhten oxidativen Stressbedingungen ausgesetzt sind, besser widerspiegelt werden. So stellten auch Halliwell & Whiteman [62] fest, dass die Supplementierung mit antioxidativen Substanzen bei gesunden gut ernährten Personen häufig nur einen geringen oder keinen Effekt auf die Lipidperoxidation hatte.

Unterschiede in der verwendeten Phenoldosis könnten ebenfalls ein Grund für die Diskrepanz der verschiedenen Studienergebnisse sein. Ausgehend von einem in den mediterranen Ländern maximalen Olivenölverzehr von 50 ml, durchschnittlich 4 μmol OHT enthaltend, berechnete Lund [468] bei einer Resorptionsrate von 60 % eine Plasmakonzentration von 0,5 $\mu\text{mol/l}$ OHT. Dieser Wert entspricht annähernd dem für verschiedene Polyphenole ermittelten Wert von Scalbert & Williamson [232], bei denen die Plasmakonzentration 1 $\mu\text{mol/l}$ nach Verzehr von 10 - 100 mg Phenol nicht überstieg. Der verzehrte Gesamtphenolgehalt in der vorliegenden Studie betrug bei 25 ml raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl jeweils 0,06 mg, 3,7 mg und 8,3 mg, was daraus ableitend ebenfalls in keiner deutlich höheren Plasmakonzentration resultieren würde. Im Vergleich dazu zeigten *in vitro* Inkubationen von Serum mit Olivenölphenolen erst bei einer Konzentration von 50 - 100 $\mu\text{mol/l}$ eine protektive Wirkung gegenüber oxidativen Modifikationen des LDL. Zwar konnte bereits bei einer Konzentration von 10 $\mu\text{mol/l}$ eine antioxidative Wirkung erzielt werden, das jedoch bei Inkubation mit aufgereinigten LDL-Partikeln [16, 254]. Im Plasma binden Phenole außer an LDL auch an andere Proteine, in isolierten LDL-Fractionen ausschließlich an LDL selber. Demzufolge wäre im Plasma eine höhere Phenolkonzentration nötig, um die LDL-Oxidation zu beeinflussen. [9] Infolgedessen könnte die eingesetzte Olivenöldosis bzw. Phenolkonzentration zu gering gewesen sein. Ferner zeigte Vissers *et al.* [278], dass sogar ein doppelt so hoher Phenolverzehr über extra natives Olivenöl die *in vivo* Lipidperoxidation nicht beeinflusste.

Die phenolischen Komponenten scheinen außerdem unterschiedliches antioxidatives Potential aufzuweisen. So kann die für die o-dihydroxy-Phenole (OHT und Oleuropein) beobachtete Wirkung in einigen Studien nicht für die mono-hydroxy-Phenole (Tyrosol und Ligstroside) eruiert werden. Tyrosol wurde teilweise sogar als prooxidativ beschrieben. [252, 264, 274, 316, 469] Dieser Wirkungsunterschied wurde auf die chemische Struktur zurückgeführt, wobei die Anzahl der OH-Gruppen ausschlaggebend sein soll [470, 471]. Folglich könnten die Olivenölphenole sich in ihrer Wirkung gegensätzlich verhalten und somit abschwächen oder sogar aufheben. Ebenso könnte die antioxidative Kapazität der im Organismus gebildeten Metabolite verschieden zur Ausgangssubstanz sein. Für die OHT-Metabolite konnte Tuck *et al.* [244] *in vitro* zeigen, dass O-MOHT ein ähnlich potenter Radikalfänger wie OHT und das 3-O-Glukuronkonjugat sogar noch wirksamer ist, während das Monosulfatkonjugat keine Radikalfänger-Eigenschaft besitzt. Bei *in vivo* Untersuchungen beispielsweise mit Quercetin wiesen die methylierten als auch die glukuronidierten Metabolite ein geringeres antioxidatives Potential auf [472, 473]. Um die tatsächliche antioxidative Wirkung der Olivenölphenole *in vivo* zu erfassen, müsste demnach auch mehr über das Wirkungsspektrum der Metabolite im Plasma bekannt sein, was zum aktuellen Zeitpunkt nicht ausreichend untersucht wurde.

Des Weiteren könnte die kardioprotektive Wirkung der Olivenölphenole nicht vorwiegend auf ihrem antioxidativen Potential beruhen, sondern diese Wirkung über andere Mechanismen erzielen. Diesbezüglich wurden in der Literatur bereits eine vasorelaxierende [258], antiinflammatorische durch Inhibierung inflammatorischer Mediatoren [269, 271, 474, 475] und antithrombotische Wirkung über die Thromboxan-B₂-Suppression [404, 405] sowie die Verbesserung der Endothelfunktion [20, 476] beschrieben.

Schließlich sollte in Betracht gezogen werden, dass die als kardioprotektiv beschriebene mediterrane Ernährungsweise als komplexes Gebilde verschiedene Lebensmittelgruppen vereint. Scheinbar ist nicht eine Substanzgruppe bzw. ein einzelnes Lebensmittel allein für die kardioprotektive Wirkung verantwortlich, vielmehr die Kombination verschiedener Lebensmittelkomponenten. Damit einhergehend sind die Ergebnisse von Trichopoulou und Kollegen [7], die eine starke inverse Assoziation zwischen dem Grad der Anpassung an die mediterrane Diät und der Gesamtmortalitätsrate ermittelten, jedoch keinen Zusammenhang zu einzelnen Lebensmittelkomponenten beobachteten. Eine mögliche Erklärung sieht Hu [178] in synergistischen und kumulativen Effekten ausgehend von der Kombination verschiedener Nährstoffe, wohingegen die Wirkung von Einzelsubstanzen oder einzelnen Lebensmitteln zu gering zu sein scheint. Perez-Jimenez und Kollegen [477] gehen außerdem davon aus, dass der Olivenölverzehr bereits in den ersten zwei Lebensjahrzehnten beginnen und lebenslang andauern sollte, um eine protektive Wirkung zu entfalten.

9 SCHLUSSFOLGERUNG

In der vorliegenden Studie wurde erstmalig die kardioprotektive Wirkung der phenolischen Komponenten aus dem Olivenöl anhand eines umfassenden Spektrums an oxidativen Stressbiomarkern bei gesunden deutschen Männern untersucht. Die Olivenölphenole zeigten in dieser Studienpopulation jedoch keinen Einfluss auf die Blutlipide, die Biomarker der Lipidperoxidation und, bis auf Glutathion-Reduktase, auch keinen Einfluss auf die endogenen Antioxidantien. Dennoch hatte der tägliche Verzehr von 25 ml Olivenöl durch die Modulation der Blutlipide einen kardioprotektiven Effekt. So sanken nach drei Wochen das Gesamtcholesterin und die Triglyzeride im Serum. Dies beruht vermutlich auf dem, mit dem Olivenölverzehr einhergehenden, gestiegenen Anteil an einfach ungesättigten Fettsäuren in der Ernährung.

Die Annahme, dass die phenolischen Verbindungen aufgrund ihrer in vielzähligen *in vitro*- [15, 264-266] und Tierstudien [237, 257, 259, 273] beschriebenen antioxidativen Effekte dem Olivenöl neben dem Fettsäureprofil eine zusätzliche protektive Wirkung bescheren, konnte in dieser Studie bei gesunden Probanden nicht bestätigt werden. Anhand der erhobenen Daten kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass sich eine kardioprotektive Wirkung über andere Mechanismen äußern könnte, die beispielsweise ebenso im Arteriosklerosegeschehen bedeutende vasorelaxierende [258], antithrombotische [272] oder antiinflammatorische [475] Eigenschaften nach sich ziehen. Die dennoch erzielte kardioprotektive Wirkung des Olivenöles auf die Blutlipide durch die Erhöhung des MUFA-Anteils spricht für die Empfehlung Olivenöl in die habituelle Ernährung zu integrieren. Ebenso sieht das die Food and Drug Administration (FDA) der USA, die seit November 2004 den amerikanischen Olivenölproduzenten die Möglichkeit einräumt, ihre Öle mit dem Hinweis zu versehen, dass täglich ca. 2 Eßlöffel Olivenöl aufgrund des hohen Anteil an einfach ungesättigten Fettsäuren das Risiko für koronare Herzerkrankungen reduzieren könnte, wenn dafür gleichzeitig gesättigte Fettsäuren ersetzt und die Gesamtenergiezufuhr unverändert bliebe [478].

Basierend auf dem studienbegleitenden Fragebogenanalyse zum Olivenölverzehr war bei der Subpopulation der deutschen Männer eine hohe Akzeptanz gegenüber diesem Lebensmittel erkennbar. Folglich könnte die Integration von Olivenöl in die habituelle Ernährung eine mögliche Strategie darstellen, das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen zu reduzieren. Da die kardioprotektive Wirkung des Olivenöles vorwiegend aus dem Fettsäureprofil resultierte, wäre die Wahl der Olivenölsorte bzw. dessen Phenolgehalt von der individuellen Geschmackspräferenz abhängig.

Ungeachtet dieser Empfehlung sollte in Betracht gezogen werden, dass die positive Wirkung der, mit einer niedrigen Inzidenz an kardiovaskulären Erkrankungen assoziierten, mediterranen Ernährungsweise wahrscheinlich nicht ausschließlich auf eine Substanz bzw. Lebensmittel zurückgeführt werden kann [7]. Vermutlich resultiert diese kardioprotektive Wirkung auf der Summe verschiedener Lebensmittel sowie Lebensstilfaktoren [178]. Die losgelöste Betrachtung einzelner Ernährungsbestandteile in Bezug zum kardiovaskulären Erkrankungsrisiko würde nur eine Möglichkeit beschreiben präventiv Einfluss nehmen zu können.

10 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] MACKAY, J. & MENSAH, G. (2004): The Atlas of Heart Disease and Stroke. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- [2] Statistisches Bundesamt Deutschland, Sterbefälle nach den 10 häufigsten Todesursachen insgesamt und nach Geschlecht 2004. www.destatis.de/basis/d/gesu/gesutab20.php (Stand:23.01.2005).
- [3] MENOTTI, A., LANTI, M., PUDDU, P. E. & KROMHOUT, D. (2000): Coronary heart disease incidence in northern and southern European populations: a reanalysis of the seven countries study for a European coronary risk chart. *Heart* 84 238-44.
- [4] World Health Organization, Regional Office for Europe (1997): Health for all - Statistical database.
- [5] DE LORGERIL, M., SALEN, P., MARTIN, J. L., MONJAUD, I., DELAYE, J. & MAMELLE, N. (1999): Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 99 779-85.
- [6] PANAGIOTAKOS, D. B., PITSAVOS, C., CHRYSOHOOU, C., STEFANADIS, C. & TOUTOUZAS, P. (2002): The role of traditional mediterranean type of diet and lifestyle, in the development of acute coronary syndromes: preliminary results from CARDIO 2000 study. *Cent Eur J Public Health* 10 11-5.
- [7] TRICHOPOULOU, A., COSTACOU, T., BAMIA, C. & TRICHOPOULOS, D. (2003): Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med* 348 2599-608.
- [8] WILLETT, W. C., SACKS, F., TRICHOPOULOU, A., DRESCHER, G., FERRO-LUZZI, A., HELSING, E. & TRICHOPOULOS, D. (1995): Mediterranean diet pyramid: a cultural model for healthy eating. *Am J Clin Nutr* 61 1402S-1406S.
- [9] VISSERS, M. N., ZOCK, P. L. & KATAN, M. B. (2004): Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans: a review. *Eur J Clin Nutr* 58 955-65.
- [10] KATAN, M. B., ZOCK, P. L. & MENSINK, R. P. (1995): Dietary oils, serum lipoproteins, and coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 61 1368S-1373S.
- [11] MENSINK, R. P. & KATAN, M. B. (1992): Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. *Arterioscler Thromb* 12 911-9.
- [12] KRIS-ETHERTON, P. M. (1999): AHA science advisory: monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease. *J Nutr* 129 2280-4.
- [13] OWEN, R. W., GIACOSA, A., HULL, W. E., HAUBNER, R., WURTELE, G., SPIEGELHALDER, B. & BARTSCH, H. (2000): Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol* 1 107-12.
- [14] VISIOLI, F. & GALLI, C. (1999): Free radical-scavenging actions of olive oil phenolics. *Lipids* 34 S315.
- [15] MANNA, C., D'ANGELO, S., MIGLIARDI, V., LOFFREDI, E., MAZZONI, O., MORRICA, P., GALLETI, P. & ZAPPÀ, V. (2002): Protective effect of the phenolic fraction from virgin olive oils against oxidative stress in human cells. *J Agric Food Chem* 50 6521-6.
- [16] VISIOLI, F., BELLOMO, G., MONTEDORO, G. & GALLI, C. (1995): Low density lipoprotein oxidation is inhibited in vitro by olive oil constituents. *Atherosclerosis* 117 25-32.
- [17] FITO, M., COVAS, M. I., LAMUELA-RAVENTOS, R. M., VILA, J., TORRENTS, L., DE LA TORRE, C. & MARRUGAT, J. (2000): Protective effect of olive oil and its phenolic compounds against low density lipoprotein oxidation. *Lipids* 35 633-8.
- [18] SALAMI, M., GALLI, C., DE ANGELIS, L. & VISIOLI, F. (1995): Formation of F2-isoprostanes in oxidized low density lipoprotein: inhibitory effect of hydroxytyrosol. *Pharmacol Res* 31 275-9.

- [19] VISIOLI, F., POLI, A. & GALL, C. (2002): Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev* 22 65-75.
- [20] CARLUCCIO, M. A., SICULELLA, L., ANCORA, M. A., MASSARO, M., SCODITTI, E., STORELLI, C., VISIOLI, F., DISTANTE, A. & DE CATERINA, R. (2003): Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23 622-9.
- [21] WITZTUM, J. L. (1994): The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 344 793-5.
- [22] BÜHLING, K. J., J., L. & WITT, K. (2000): Intensivkurs: Allgemeine und spezielle Pathologie, 2. Aufl. ed. Urban & Fischer Verlag, München.
- [23] o.V. (1992): Pschyrembel Klinisches Wörterbuch. Vol. 258. Auflage. Walter de Gruyter & Co Verlag, Berlin.
- [24] PUSKA, P., MENDIS, S. & PORTER, D. (2003): Global strategy on diet, physical activity and health. World Health Organization, Geneva.
- [25] LUSIS, A. J. (2000): Atherosclerosis. *Nature* 407 233-41.
- [26] ROSS, R. & GLOMSET, J. A. (1976): The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med* 295 369-77.
- [27] ROSS, R. & GLOMSET, J. A. (1976): The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts). *N Engl J Med* 295 420-5.
- [28] DUVALL, W. L. (2005): Endothelial dysfunction and antioxidants. *Mt Sinai J Med* 72 71-80.
- [29] GIMBRONE, M. A., JR. (1999): Vascular endothelium, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Am J Pathol* 155 1-5.
- [30] CHERUBINI, A., VIGNA, G. B., ZULIANI, G., RUGGIERO, C., SENIN, U. & FELLIN, R. (2005): Role of antioxidants in atherosclerosis: epidemiological and clinical update. *Curr Pharm Des* 11 2017-32.
- [31] WESTHUYZEN, J. (1997): The oxidation hypothesis of atherosclerosis: an update. *Ann Clin Lab Sci* 27 1-10.
- [32] PARTHASARATHY, S. & RANKIN, S. M. (1992): Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Prog Lipid Res* 31 127-43.
- [33] MOREL, D. W., DICORLETO, P. E. & CHISOLM, G. M. (1984): Endothelial and smooth muscle cells alter low density lipoprotein in vitro by free radical oxidation. *Arteriosclerosis* 4 357-64.
- [34] HIRAMATSU, K., ROSEN, H., HEINECKE, J. W., WOLFBAUER, G. & CHAIT, A. (1987): Superoxide initiates oxidation of low density lipoprotein by human monocytes. *Arteriosclerosis* 7 55-60.
- [35] PARTHASARATHY, S., PRINTZ, D. J., BOYD, D., JOY, L. & STEINBERG, D. (1986): Macrophage oxidation of low density lipoprotein generates a modified form recognized by the scavenger receptor. *Arteriosclerosis* 6 505-10.
- [36] WITZTUM, J. L. & STEINBERG, D. (1991): Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 88 1785-92.
- [37] FROSTEGARD, J., HAEGERSTRAND, A., GIDLUND, M. & NILSSON, J. (1991): Biologically modified LDL increases the adhesive properties of endothelial cells. *Atherosclerosis* 90 119-26.
- [38] ERIKSSON, E. E., XIE, X., WERR, J., THOREN, P. & LINDBOM, L. (2001): Importance of primary capture and L-selectin-dependent secondary capture in leukocyte accumulation in inflammation and atherosclerosis in vivo. *J Exp Med* 194 205-18.

- [39] OKADA, M., SUGITA, O., MIIDA, T., MATSUTO, T. & INANO, K. (1995): Effects of modified low density lipoprotein and hypoxia on the expression of endothelial leukocyte adhesion molecule-1. *Presse Med* 24 483-8.
- [40] CUSHING, S. D., BERLINER, J. A., VALENTE, A. J., TERRITO, M. C., NAVAB, M., PARHAMI, F., GERRITY, R., SCHWARTZ, C. J. & FOGELMAN, A. M. (1990): Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 5134-8.
- [41] RAJAVASHISTH, T. B., ANDALIBI, A., TERRITO, M. C., BERLINER, J. A., NAVAB, M., FOGELMAN, A. M. & LUSIS, A. J. (1990): Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. *Nature* 344 254-7.
- [42] QUINN, M. T., PARTHASARATHY, S., FONG, L. G. & STEINBERG, D. (1987): Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84 2995-8.
- [43] TONTONOZ, P., NAGY, L., ALVAREZ, J. G., THOMAZY, V. A. & EVANS, R. M. (1998): PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. *Cell* 93 241-52.
- [44] SUZUKI, H., KURIHARA, Y., TAKEYA, M., KAMADA, N., KATAOKA, M., JISHAGE, K., UEDA, O., SAKAGUCHI, H., HIGASHI, T., SUZUKI, T., TAKASHIMA, Y., KAWABE, Y., CYN Shi, O., WADA, Y., HONDA, M., KURIHARA, H., ABURATANI, H., DOI, T., MATSUMOTO, A., AZUMA, S., NODA, T., TOYODA, Y., ITAKURA, H., YAZAKI, Y., KODAMA, T. & ET AL. (1997): A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature* 386 292-6.
- [45] HAHN, A., STRÖHLE, A., SCHMITT, B. & WATKINSON, B. M. (2002): Wirkstoffe funktioneller Lebensmittel in der Prävention der Arteriosklerose Teil 1: Physiologische Grundlagen der Wirkung von omega-3-Fettsäuren. *Ernährungs-Umschau* 49 172-177.
- [46] OKADA, M., MATSUTO, T., MIIDA, T., OBAYASHI, K., ZHU, Y. & FUEKI, Y. (2004): Lipid analyses for the management of vascular diseases. *J Atheroscler Thromb* 11 190-9.
- [47] DIAZ, M. N., FREI, B., VITA, J. A. & KEANEY, J. F., JR. (1997): Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 337 408-16.
- [48] ESTERBAUER, H., GEBICKI, J., PUHL, H. & JURGENS, G. (1992): The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL. *Free Radic Biol Med* 13 341-90.
- [49] PARTHASARATHY, S., AUGE, N. & SANTANAM, N. (1998): Implications of lag time concept in the oxidation of LDL. *Free Radic Res* 28 583-91.
- [50] ESTERBAUER, H. R., P (1995): Chemistry and pathophysiology of oxidation of LDL. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 127 31-63.
- [51] ROSS, R. (1999): Atherosclerosis is an inflammatory disease. *Am Heart J* 138 S419-20.
- [52] HANSSON, G. K. (2005): Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 352 1685-95.
- [53] HALLIWELL, B. (1999): Antioxidant defence mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). *Free Radic Res* 31 261-72.
- [54] SCANDALIOS, J. G. (2005): Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res* 38 995-1014.
- [55] FORTH, W., HENSCHER, W., RUMMEL & STARKE, K. (1992): Radikale, 6 ed.
- [56] MAXWELL, S. R. & LIP, G. Y. (1997): Free radicals and antioxidants in cardiovascular disease. *Br J Clin Pharmacol* 44 307-17.

- [57] POULSEN, H. E. (2005): Oxidative DNA modifications. *Exp Toxicol Pathol* 57 Suppl 1 161-9.
- [58] Medizinische Fakultät, Universität Düsseldorf (2004): Oxidativer Stress: vom molekularen Mechanismus zur Klinik.
- [59] PAPAS, A. M. (2000): Chemistry of active oxygen species and antioxidants. In Papas, A. M. (Ed.), *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- [60] PAPAS, A. M. (2000): Determinant of antioxidant status in humans. In Papas, A. M. (Ed.), *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*, pp. 21-37. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- [61] DOTAN, Y., LICHTENBERG, D. & PINCHUK, I. (2004): Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res* 43 200-27.
- [62] HALLIWELL, B. & WHITEMAN, M. (2004): Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 142 231-55.
- [63] GUTTERIDGE, J. M. (1993): Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun* 19 141-58.
- [64] BERGER, M. M. (2005): Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clin Nutr* 24 172-83.
- [65] EVANS, M. D., DIZDAROGLU, M. & COOKE, M. S. (2004): Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat Res* 567 1-61.
- [66] COOKE, M. S., EVANS, M. D., DIZDAROGLU, M. & LUNEC, J. (2003): Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *Faseb J* 17 1195-214.
- [67] DROGE, W. (2002): Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82 47-95.
- [68] YOUNES, M. (1994): Freie Radikale und reaktive Sauerstoffspezies. Bi-Wissenschaftsverlag, Mannheim.
- [69] GALLI, F., PIRODDI, M., ANNETTI, C., AISA, C., FLORIDI, E. & FLORIDI, A. (2005): Oxidative stress and reactive oxygen species. *Contrib Nephrol* 149 240-60.
- [70] ABUJA, P. M. & ALBERTINI, R. (2001): Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 306 1-17.
- [71] WAGNER, A. & HJAHREIS, G. (2004): Nachweis von DNA-Schäden mittels Analyse von oxidierten Nukleosiden und deren Anwendung als Biomarker. *Ernährungs-Umschau* 51 (5) 178-184.
- [72] PINCEMAIL, J., Der Oxidative Stress. www.probiox.com/de/html/body_stressoxydant.htm (Stand: 15.07.05).
- [73] KIMURA, H., SAWADA, T., OSHIMA, S., KOZAWA, K., ISHIOKA, T. & KATO, M. (2005): Toxicity and roles of reactive oxygen species. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 4 489-95.
- [74] VAN DYKE, B. R. & SALTMAN, P. (1996): Hemoglobin: a mechanism for the generation of hydroxyl radicals. *Free Radic Biol Med* 20 985-9.
- [75] STOCKER, R. & KEANEY, J. F., JR. (2005): New insights on oxidative stress in the artery wall. *J Thromb Haemost* 3 1825-34.
- [76] LÖFFLER, G. & PETRIDES, P. E. (2003): Oxidativer Stress, 7 ed. Springer Verlag, Heidelberg.
- [77] NAGATA, M. (2005): Inflammatory cells and oxygen radicals. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 4 503-4.

- [78] IRANI, K. (2000): Oxidant signaling in vascular cell growth, death, and survival : a review of the roles of reactive oxygen species in smooth muscle and endothelial cell mitogenic and apoptotic signaling. *Circ Res* 87 179-83.
- [79] CIMINO, F., ESPOSITO, F., AMMENDOLA, R. & RUSSO, T. (1997): Gene regulation by reactive oxygen species. *Curr Top Cell Regul* 35 123-48.
- [80] PALMER, H. J. & PAULSON, K. E. (1997): Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expression. *Nutr Rev* 55 353-61.
- [81] OWUOR, E. D. & KONG, A. N. (2002): Antioxidants and oxidants regulated signal transduction pathways. *Biochem Pharmacol* 64 765-70.
- [82] HOLGREM, A. (2003): Redox redulation of genes and cell function. In Cutler, R. & Rodriguez, H. (Eds.), *Critical review of oxidative stress and aging*, Vol. 2, pp. 102-111. World Scientific.
- [83] CURTIN, J. F., DONOVAN, M. & COTTER, T. G. (2002): Regulation and measurement of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Methods* 265 49-72.
- [84] WHITEMAN, M., HONG, H. S., JENNER, A. & HALLIWELL, B. (2002): Loss of oxidized and chlorinated bases in DNA treated with reactive oxygen species: implications for assessment of oxidative damage in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 296 883-9.
- [85] POULSEN, H. E., PRIEME, H. & LOFT, S. (1998): Role of oxidative DNA damage in cancer initiation and promotion. *Eur J Cancer Prev* 7 9-16.
- [86] MARNETT, L. J. (2000): Oxyradicals and DNA damage. *Carcinogenesis* 21 361-70.
- [87] WISEMAN, H. & HALLIWELL, B. (1996): Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochem J* 313 (Pt 1) 17-29.
- [88] NIKI, E., YOSHIDA, Y., SAITO, Y. & NOGUCHI, N. (2005): Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. *Biochem Biophys Res Commun* 338 668-76.
- [89] HALLIWELL, B. (1995): Oxidation of low-density lipoproteins: questions of initiation, propagation, and the effect of antioxidants. *Am J Clin Nutr* 61 670S-677S.
- [90] AIKENS, J. & DIX, T. A. (1991): Perohydroxyl radical (HOO.) initiated lipid peroxidation. The role of fatty acid hydroperoxides. *J Biol Chem* 266 15091-8.
- [91] YAMAMOTO, S. (1992): Mammalian lipoxygenases: molecular structures and functions. *Biochim Biophys Acta* 1128 117-31.
- [92] MONTINE, T. J. & MORROW, J. D. (2005): Fatty acid oxidation in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 166 1283-9.
- [93] REAVEN, P. D. & WITZTUM, J. L. (1996): Oxidized low density lipoproteins in atherogenesis: role of dietary modification. *Annu Rev Nutr* 16 51-71.
- [94] YLA-HERTTUALA, S. (1991): Macrophages and oxidized low density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Ann Med* 23 561-7.
- [95] PALINSKI, W., ROSENFELD, M. E., YLA-HERTTUALA, S., GURTNER, G. C., SOCHER, S. S., BUTLER, S. W., PARTHASARATHY, S., CAREW, T. E., STEINBERG, D. & WITZTUM, J. L. (1989): Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86 1372-6.
- [96] YLA-HERTTUALA, S., PALINSKI, W., ROSENFELD, M. E., PARTHASARATHY, S., CAREW, T. E., BUTLER, S., WITZTUM, J. L. & STEINBERG, D. (1989): Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest* 84 1086-95.

- [97] YLA-HERTTUALA, S., PALINSKI, W., ROSENFELD, M. E., STEINBERG, D. & WITZTUM, J. L. (1990): Lipoproteins in normal and atherosclerotic aorta. *Eur Heart J* 11 Suppl E 88-99.
- [98] EHARA, S., UEDA, M., NARUKO, T., HAZE, K., ITOH, A., OTSUKA, M., KOMATSU, R., MATSUO, T., ITABE, H., TAKANO, T., TSUKAMOTO, Y., YOSHIYAMA, M., TAKEUCHI, K., YOSHIKAWA, J. & BECKER, A. E. (2001): Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* 103 1955-60.
- [99] HULTHE, J. (2004): Antibodies to oxidized LDL in atherosclerosis development--clinical and animal studies. *Clin Chim Acta* 348 1-8.
- [100] YLA-HERTTUALA, S., PALINSKI, W., BUTLER, S. W., PICARD, S., STEINBERG, D. & WITZTUM, J. L. (1994): Rabbit and human atherosclerotic lesions contain IgG that recognizes epitopes of oxidized LDL. *Arterioscler Thromb* 14 32-40.
- [101] WITZTUM, J. L. (1993): Role of oxidised low density lipoprotein in atherogenesis. *Br Heart J* 69 S12-8.
- [102] PUURUNEN, M., MANTTARI, M., MANNINEN, V., TENKANEN, L., ALFTHAN, G., EHNHOLM, C., VAARALA, O., AHO, K. & PALOSUO, T. (1994): Antibody against oxidized low-density lipoprotein predicting myocardial infarction. *Arch Intern Med* 154 2605-9.
- [103] DOTEVALL, A., HULTHE, J., ROSENGREN, A., WIKLUND, O. & WILHELMSEN, L. (2001): Autoantibodies against oxidized low-density lipoprotein and C-reactive protein are associated with diabetes and myocardial infarction in women. *Clin Sci (Lond)* 101 523-31.
- [104] INOUE, T., YAGUCHI, I., UCHIDA, T., KAMISHIRADO, H., NAKAHARA, S., HAYASHI, T. & MOROOKA, S. (2002): Clinical significance of the antibody against oxidized low-density lipoprotein in acute myocardial infarction. *Cardiology* 98 13-7.
- [105] CORONGIU, F. P. & BANNI, S. (1994): Detection of conjugated dienes by second derivative ultraviolet spectrophotometry. *Methods Enzymol* 233 303-10.
- [106] AHOTUPA, M., MARNIEMI, J., LEHTIMAKI, T., TALVINEN, K., RAITAKARI, O. T., VASANKARI, T., VIKARI, J., LUOMA, J. & YLA-HERTTUALA, S. (1998): Baseline diene conjugation in LDL lipids as a direct measure of in vivo LDL oxidation. *Clin Biochem* 31 257-61.
- [107] JIALAL, I. & DEVARAJ, S. (1996): Low-density lipoprotein oxidation, antioxidants, and atherosclerosis: a clinical biochemistry perspective. *Clin Chem* 42 498-506.
- [108] MOORE, K. & ROBERTS, L. J., 2ND (1998): Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res* 28 659-71.
- [109] SALONEN, J. T. (2000): Markers of oxidative damage and antioxidant protection: assessment of LDL oxidation. *Free Radic Res* 33 Suppl S41-6.
- [110] MORROW, J. D. & ROBERTS, L. J. (2002): The isoprostanes: their role as an index of oxidant stress status in human pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 166 S25-30.
- [111] MONTUSCHI, P., BARNES, P. J. & ROBERTS, L. J., 2ND (2004): Isoprostanes: markers and mediators of oxidative stress. *Faseb J* 18 1791-800.
- [112] PRATICO, D., IULIANO, L., MAURIELLO, A., SPAGNOLI, L., LAWSON, J. A., ROKACH, J., MACLOUF, J., VIOLI, F. & FITZGERALD, G. A. (1997): Localization of distinct F2-isoprostanes in human atherosclerotic lesions. *J Clin Invest* 100 2028-34.
- [113] REILLY, M., DELANTY, N., LAWSON, J. A. & FITZGERALD, G. A. (1996): Modulation of oxidant stress in vivo in chronic cigarette smokers. *Circulation* 94 19-25.
- [114] MORROW, J. D., FREI, B., LONGMIRE, A. W., GAZIANO, J. M., LYNCH, S. M., SHYR, Y., STRAUSS, W. E., OATES, J. A. & ROBERTS, L. J., 2ND (1995): Increase in circulating products of lipid

- peroxidation (F2-isoprostanes) in smokers. Smoking as a cause of oxidative damage. *N Engl J Med* 332 1198-203.
- [115] REILLY, M. P., PRATICO, D., DELANTY, N., DIMINNO, G., TREMOLI, E., RADER, D., KAPOOR, S., ROKACH, J., LAWSON, J. & FITZGERALD, G. A. (1998): Increased formation of distinct F2 isoprostanes in hypercholesterolemia. *Circulation* 98 2822-8.
- [116] DAVI, G., ALESSANDRINI, P., MEZZETTI, A., MINOTTI, G., BUCCIARELLI, T., COSTANTINI, F., CIPOLLONE, F., BON, G. B., CIABATTONI, G. & PATRONO, C. (1997): In vivo formation of 8-Epi-prostaglandin F2 alpha is increased in hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17 3230-5.
- [117] DAVI, G., CIABATTONI, G., CONSOLI, A., MEZZETTI, A., FALCO, A., SANTARONE, S., PENNESE, E., VITACOLONNA, E., BUCCIARELLI, T., COSTANTINI, F., CAPANI, F. & PATRONO, C. (1999): In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f2alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. *Circulation* 99 224-9.
- [118] DAVI, G., DI MINNO, G., COPPOLA, A., ANDRIA, G., CERBONE, A. M., MADONNA, P., TUFANO, A., FALCO, A., MARCHESANI, P., CIABATTONI, G. & PATRONO, C. (2001): Oxidative stress and platelet activation in homozygous homocystinuria. *Circulation* 104 1124-8.
- [119] KEANEY, J. F., JR., LARSON, M. G., VASAN, R. S., WILSON, P. W., LIPINSKA, I., COREY, D., MASSARO, J. M., SUTHERLAND, P., VITA, J. A. & BENJAMIN, E. J. (2003): Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23 434-9.
- [120] LEHMANN, W. D., STEPHAN, M. & FURSTENBERGER, G. (1992): Profiling assay for lipoxygenase products of linoleic and arachidonic acid by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem* 204 158-70.
- [121] ITABE, H. (1998): Oxidized phospholipids as a new landmark in atherosclerosis. *Prog Lipid Res* 37 181-207.
- [122] KAIKKONEN, J., TUOMAINEN, T. P., NYSSONEN, K., MORROW, J. D. & SALONEN, J. T. (2004): C18 hydroxy fatty acids as markers of lipid peroxidation ex vivo and in vivo. *Scand J Clin Lab Invest* 64 457-68.
- [123] YAMAMOTO, Y., NAGATA, Y., NIKI, E., WATANABE, K. & YOSHIMURA, S. (1993): Plasma glutathione peroxidase reduces phosphatidylcholine hydroperoxide. *Biochem Biophys Res Commun* 193 133-8.
- [124] GARDNER, H. W. (1975): Decomposition of linoleic acid hydroperoxides. Enzymic reactions compared with nonenzymic. *J Agric Food Chem* 23 129-36.
- [125] MALLAT, Z., NAKAMURA, T., OHAN, J., LESECHE, G., TEDGUI, A., MACLOUF, J. & MURPHY, R. C. (1999): The relationship of hydroxyecosatetraenoic acids and F2-isoprostanes to plaque instability in human carotid atherosclerosis. *J Clin Invest* 103 421-7.
- [126] WADDINGTON, E. I., CROFT, K. D., SIENUARINE, K., LATHAM, B. & PUDDEY, I. B. (2003): Fatty acid oxidation products in human atherosclerotic plaque: an analysis of clinical and histopathological correlates. *Atherosclerosis* 167 111-20.
- [127] CARPENTER, K. L., TAYLOR, S. E., VAN DER VEEN, C., WILLIAMSON, B. K., BALLANTINE, J. A. & MITCHINSON, M. J. (1995): Lipids and oxidised lipids in human atherosclerotic lesions at different stages of development. *Biochim Biophys Acta* 1256 141-50.
- [128] SUARNA, C., DEAN, R. T., SOUTHWELL-KEELEY, P. T., MOORE, D. E. & STOCKER, R. (1997): Separation and characterization of cholesteryl oxo- and hydroxy-linoleate isolated from human atherosclerotic plaque. *Free Radic Res* 27 397-408.

- [129] DANDONA, P., MOHANTY, P., GHANIM, H., ALJADA, A., BROWNE, R., HAMOUDA, W., PRABHALA, A., AFZAL, A. & GARG, R. (2001): The suppressive effect of dietary restriction and weight loss in the obese on the generation of reactive oxygen species by leukocytes, lipid peroxidation, and protein carbonylation. *J Clin Endocrinol Metab* 86 355-62.
- [130] JIRA, W., SPITELLER, G., CARSON, W. & SCHRAMM, A. (1998): Strong increase in hydroxy fatty acids derived from linoleic acid in human low density lipoproteins of atherosclerotic patients. *Chem Phys Lipids* 91 1-11.
- [131] SULTANA, C., SHEN, Y., RATTAN, V. & KALRA, V. K. (1996): Lipoxygenase metabolites induced expression of adhesion molecules and transendothelial migration of monocyte-like HL-60 cells is linked to protein kinase C activation. *J Cell Physiol* 167 477-87.
- [132] ESTERBAUER, H. (1993): Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation products. *Am J Clin Nutr* 57 779S-785S; discussion 785S-786S.
- [133] MCCORD, J. M. & FRIDOVICH, I. (1969): Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte protein (hemocuprein). *J Biol Chem* 244 6049-55.
- [134] GATE, L., PAUL, J., BA, G. N., TEW, K. D. & TAPIERO, H. (1999): Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomed Pharmacother* 53 169-80.
- [135] SUNDARAM, R. K., BHASKAR, A., VIJAYALINGAM, S., VISWANATHAN, M., MOHAN, R. & SHANMUGASUNDARAM, K. R. (1996): Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond)* 90 255-60.
- [136] ZIMA, T., SPICKA, I., STIPEK, S., CRKOVSKA, J., PLATENIK, J., MERTA, M. & TESAR, V. (1996): Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in patients with multiple myeloma. *Neoplasma* 43 69-73.
- [137] TURI, S., NEMETH, I., TORKOS, A., SAGHY, L., VARGA, I., MATKOVICS, B. & NAGY, J. (1997): Oxidative stress and antioxidant defense mechanism in glomerular diseases. *Free Radic Biol Med* 22 161-8.
- [138] DE LA TORRE, M. R., CASADO, A., LOPEZ-FERNANDEZ, M. E., CARRASCOSA, D., CASADO, M. C., VENARUCCI, D. & VENARUCCI, V. (1996): Human aging brain disorders: role of antioxidant enzymes. *Neurochem Res* 21 885-8.
- [139] AKKUS, I., SAGLAM, N. I., CAGLAYAN, O., VURAL, H., KALAK, S. & SAGLAM, M. (1996): Investigation of erythrocyte membrane lipid peroxidation and antioxidant defense systems of patients with coronary artery disease (CAD) documented by angiography. *Clin Chim Acta* 244 173-80.
- [140] WANG, X. L., ADACHI, T., SIM, A. S. & WILCKEN, D. E. (1998): Plasma extracellular superoxide dismutase levels in an Australian population with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18 1915-21.
- [141] COVAS, M. I., ELOSUA, R., FITO, M., ALCANTARA, M., COCA, L. & MARRUGAT, J. (2002): Relationship between physical activity and oxidative stress biomarkers in women. *Med Sci Sports Exerc* 34 814-9.
- [142] GUTTERIDGE, J. M. (1995): Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 41 1819-28.
- [143] FLOHE, L. & GUNZLER, W. A. (1984): Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 105 114-21.
- [144] URSINI, F., MAIORINO, M. & GREGOLIN, C. (1986): Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Int J Tissue React* 8 99-103.

- [145] KLOTZ, L. O., KRONCKE, K. D., BUCHCZYK, D. P. & SIES, H. (2003): Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. *J Nutr* 133 1448S-51S.
- [146] MASELLA, R., DI BENEDETTO, R., VARI, R., FILESI, C. & GIOVANNINI, C. (2005): Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *J Nutr Biochem* 16 577-86.
- [147] URSINI, F., MAIORINO, M., BRIGELIUS-FLOHE, R., AUMANN, K. D., ROVERI, A., SCHOMBURG, D. & FLOHE, L. (1995): Diversity of glutathione peroxidases. *Methods Enzymol* 252 38-53.
- [148] BLANKENBERG, S., RUPPRECHT, H. J., BICKEL, C., TORZEWSKI, M., HAFNER, G., TIRET, L., SMIEJA, M., CAMBIEN, F., MEYER, J. & LACKNER, K. J. (2003): Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 349 1605-13.
- [149] TOSUKHOWONG, P., SANGWATANAROJ, S., JATUPORN, S., PRAPUNWATTANA, P., SAENGSIRI, A., RATTANAPRUKS, S., SRIMAHACHOTA, S., UDAYACHALERM, W. & TANGKIJVANICH, P. (2003): The correlation between markers of oxidative stress and risk factors of coronary artery disease in Thai patients. *Clin Hemorheol Microcirc* 29 321-9.
- [150] SERDAR, Z., ASLAN, K., DIRICAN, M., SARANDOL, E., YESILBURSA, D. & SERDAR, A. (2006): Lipid and protein oxidation and antioxidant status in patients with angiographically proven coronary artery disease. *Clin Biochem*.
- [151] KAUR, G., MISRA, M. K., SANWAL, G. G., SHANKER, K. & CHANDRA, M. (1999): Levels of glutathione reductase and glutathione peroxidase of human platelets in unstable angina and myocardial infarction. *Boll Chim Farm* 138 437-9.
- [152] WU, G., FANG, Y. Z., YANG, S., LUPTON, J. R. & TURNER, N. D. (2004): Glutathione metabolism and its implications for health. *J Nutr* 134 489-92.
- [153] LU, S. C. (2000): Regulation of glutathione synthesis. *Curr Top Cell Regul* 36 95-116.
- [154] FANG, Y. Z., YANG, S. & WU, G. (2002): Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition* 18 872-9.
- [155] GRIFFITH, O. W. (1999): Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radic Biol Med* 27 922-35.
- [156] RODRIGUEZ ESPARRAGON, F., HERNANDEZ TRUJILLO, Y., MACIAS REYES, A., HERNANDEZ ORTEGA, E., MEDINA, A. & RODRIGUEZ PEREZ, J. C. (2006): Concerning the Significance of Paraoxonase-I and SR-B1 Genes in Atherosclerosis. *Rev Esp Cardiol* 59 154-164.
- [157] AVIRAM, M. & ROSENBLAT, M. (2005): Paraoxonases and cardiovascular diseases: pharmacological and nutritional influences. *Curr Opin Lipidol* 16 393-9.
- [158] NG, C. J., SHIH, D. M., HAMA, S. Y., VILLA, N., NAVAB, M. & REDDY, S. T. (2005): The paraoxonase gene family and atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 38 153-63.
- [159] MARCHESANI, M., HAKKARAINEN, A., TUOMAINEN, T. P., KAIKKONEN, J., PUKKALA, E., UIMARI, P., SEPPALA, E., MATIKAINEN, M., KALLIONIEMI, O. P., SCHLEUTKER, J., LEHTIMAKI, T. & SALONEN, J. T. (2003): New paraoxonase 1 polymorphism I102V and the risk of prostate cancer in Finnish men. *J Natl Cancer Inst* 95 812-8.
- [160] ROZENBERG, O., ROSENBLAT, M., COLEMAN, R., SHIH, D. M. & AVIRAM, M. (2003): Paraoxonase (PON1) deficiency is associated with increased macrophage oxidative stress: studies in PON1-knockout mice. *Free Radic Biol Med* 34 774-84.
- [161] ROZENBERG, O., SHIH, D. M. & AVIRAM, M. (2003): Human serum paraoxonase 1 decreases macrophage cholesterol biosynthesis: possible role for its phospholipase-A2-like activity and lysophosphatidylcholine formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23 461-7.

- [162] ROSENBLAT, M., VAYA, J., SHIH, D. & AVIRAM, M. (2005): Paraoxonase 1 (PON1) enhances HDL-mediated macrophage cholesterol efflux via the ABCA1 transporter in association with increased HDL binding to the cells: a possible role for lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 179 69-77.
- [163] MACKNESS, B., DURRINGTON, P. N. & MACKNESS, M. I. (2002): The paraoxonase gene family and coronary heart disease. *Curr Opin Lipidol* 13 357-62.
- [164] ABBOTT, C. A., MACKNESS, M. I., KUMAR, S., BOULTON, A. J. & DURRINGTON, P. N. (1995): Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15 1812-8.
- [165] SENTI, M., TOMAS, M., MARRUGAT, J. & ELOSUA, R. (2001): Paraoxonase1-192 polymorphism modulates the nonfatal myocardial infarction risk associated with decreased HDLs. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21 415-20.
- [166] MACKNESS, M. I., HARTY, D., BHATNAGAR, D., WINOCOUR, P. H., ARROL, S., ISHOLA, M. & DURRINGTON, P. N. (1991): Serum paraoxonase activity in familial hypercholesterolaemia and insulin-dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 86 193-9.
- [167] MACKNESS, M. I., ARROL, S. & DURRINGTON, P. N. (1991): Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 286 152-4.
- [168] KEYS, A. (1980): A Multivariate Analysis of Death and Coronary Heart Disease. Harvard University Press, Cambridge.
- [169] KROMHOUT, D., KEYS, A., ARAVANIS, C., BUZINA, R., FIDANZA, F., GIAMPAOLI, S., JANSEN, A., MENOTTI, A., NEDELJKOVIC, S., PEKKARINEN, M. & ET AL. (1989): Food consumption patterns in the 1960s in seven countries. *Am J Clin Nutr* 49 889-94.
- [170] DE LORGERIL, M. & SALEN, P. (2001): Mediterranean type of diet for the prevention of coronary heart disease. A global perspective from the seven countries study to the most recent dietary trials. *Int J Vitam Nutr Res* 71 166-72.
- [171] PITSAVOS, C., PANAGIOTAKOS, D. B., CHRYSOHOOU, C., KOKKINOS, P. F., SKOUMAS, J., PAPAIOANNOU, I., STEFANADIS, C. & TOUTOUZAS, P. (2002): The effect of the combination of Mediterranean diet and leisure time physical activity on the risk of developing acute coronary syndromes, in hypertensive subjects. *J Hum Hypertens* 16 517-24.
- [172] PITSAVOS, C., PANAGIOTAKOS, D. B., CHRYSOHOOU, C., SKOUMAS, J., PAPAIOANNOU, I., STEFANADIS, C. & TOUTOUZAS, P. K. (2002): The effect of Mediterranean diet on the risk of the development of acute coronary syndromes in hypercholesterolemic people: a case-control study (CARDIO2000). *Coron Artery Dis* 13 295-300.
- [173] PITSAVOS, C., PANAGIOTAKOS, D. B., CHRYSOHOOU, C., PAPAIOANNOU, I., PAPADIMITRIOU, L., TOUSOULIS, D., STEFANADIS, C. & TOUTOUZAS, P. (2003): The adoption of Mediterranean diet attenuates the development of acute coronary syndromes in people with the metabolic syndrome. *Nutr J* 2 1.
- [174] SERRA-MAJEM, L., TRICHOPOULOU, A., NGO DE LA CRUZ, J., CERVERA, P., GARCIA ALVAREZ, A., LA VECCHIA, C., LEMTOUNI, A. & TRICHOPOULOS, D. (2004): Does the definition of the Mediterranean diet need to be updated? *Public Health Nutr* 7 927-9.
- [175] YARNELL, J. W. & EVANS, A. E. (2000): The Mediterranean diet revisited--towards resolving the (French) paradox. *Qjm* 93 783-5.
- [176] LANZOLA, E. (1995): Mediterranean Diet: Is a clear definition possible? *Intern J Vit Nutr Res*.
- [177] TRICHOPOULOU, A. & LAGIOU, P. (1997): Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history, and lifestyle. *Nutr Rev* 55 383-9.

- [178] HU, F. B. (2003): The Mediterranean diet and mortality--olive oil and beyond. *N Engl J Med* 348 2595-6.
- [179] TRICHOPOULOU, A. & PAGONA, L. (2001): The Mediterranean Diet: Definition, Epidemiological Aspects and Current Patterns. In Matalas, A.-L., Zampelas, A., Stavrinou, V. & Wolinsky, I. (Eds.), *The Mediterranean Diet: Constitutions and Health Promotion*, pp. 53-76. CRC Press LLC, Boca Raton, Florida.
- [180] RUMM-KREUTER, D. (2001): Comparison of the eating and cooking habits of northern Europe and the Mediterranean countries in the past, present and future. *Int J Vitam Nutr Res* 71 141-8.
- [181] MANCINI, M. & RUBBA, P. (2000): The Mediterranean diet in Italy. *World Rev Nutr Diet* 87 114-26.
- [182] PEREZ-JIMENEZ, F., LOPEZ-MIRANDA, J. & MATA, P. (2002): Protective effect of dietary monounsaturated fat on arteriosclerosis: beyond cholesterol. *Atherosclerosis* 163 385-98.
- [183] FRANKHÄNEL, S. (2002): Mediterrane Ernährung. *Ernährungs-Umschau* 49 244-245.
- [184] KAFATOS, A., DIACATOU, A., VOUKIKLARIS, G., NIKOLAKAKIS, N., VLACHONIKOLIS, J., KOUNALI, D., MAMALAKIS, G. & DONTAS, A. S. (1997): Heart disease risk-factor status and dietary changes in the Cretan population over the past 30 y: the Seven Countries Study. *Am J Clin Nutr* 65 1882-6.
- [185] TRICHOPOULOU, A. & LAGIOU, A. (1998), *Methodology for the Exploitation of HBS Food Data and Results on Food Availability in 6 European Countries*, pp. 1-162. European Commission, Luxembourg.
- [186] TRICHOPOULOU, A., KOURIS-BLAZOS, A., VASSILAKOU, T., GNARDELLIS, C., POLYCHRONOPOULOS, E., VENIZELOS, M., LAGIOU, P., WAHLQVIST, M. L. & TRICHOPOULOS, D. (1995): Diet and survival of elderly Greeks: a link to the past. *Am J Clin Nutr* 61 1346S-1350S.
- [187] D'AVANZO, B., LA VECCHIA, C., BRAGA, C., FRANCESCHI, S., NEGRI, E. & PARPINEL, M. (1997): Nutrient intake according to education, smoking, and alcohol in Italian women. *Nutr Cancer* 28 46-51.
- [188] AGUDO, A. & PERA, G. (1999): Vegetable and fruit consumption associated with anthropometric, dietary and lifestyle factors in Spain. EPIC Group of Spain. European Prospective Investigation into Cancer. *Public Health Nutr* 2 263-71.
- [189] KEYS, A., MENOTTI, A., KARVONEN, M. J., ARAVANIS, C., BLACKBURN, H., BUZINA, R., DJORDJEVIC, B. S., DONTAS, A. S., FIDANZA, F., KEYS, M. H. & ET AL. (1986): The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol* 124 903-15.
- [190] TRICHOPOULOU, A. (2001): Mediterranean diet: the past and the present. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 11 1-4.
- [191] SCHÄFER-SCHUCHARDT, H. (1993): Die Olive. Kulturgeschichte einer Frucht. DA Verlag Das Andere GmbH, Nürnberg.
- [192] FERGUSON, C. (2001): Olivenöl - Gold des Südens, Geschichte, Sortenkunde, die besten Rezepte. Augustus Verlag, München.
- [193] VISIOLI, F. & GALLI, C. (1995): Natural antioxidants and prevention of coronary heart disease: the potential role of olive oil and its minor constituents. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 5 306-314.
- [194] FRANKE, W. (1997): Nutzpflanzenkunde - Nutzbare Gewächse der gemäßigten Breiten, Subtropen und Tropen, 6. ed. Thieme Verlag, Stuttgart.
- [195] o.V., Olivenöl. www.olivenoel-info.de (Stand: 14.01.2005).
- [196] Kommission der Europäischen Gemeinschaften (2000): Bericht der Kommission an den Rat und das Europäische Parlament über die Qualitätssicherung bei Olivenöl. Brüssel.

- [197] EUROLIVE, www.kepka.org/euolive (Stand: 14.01.2005).
- [198] Kommission der Europäischen Gemeinschaften (1998): Fact sheets: Für eine Reform des Olivenölsektors.
- [199] Kommission der Europäischen Gemeinschaften (o.J.): Working paper of the Directorate-General for Agriculture, The olive oil and table olive sector.
- [200] Kommission der Europäischen Gemeinschaften (2003): Vervollständigung des Modells einer nachhaltigen Landwirtschaft für Europa durch die Reform von GAP - Tabak, Olivenöl, Baumwolle, Zucker. Brüssel.
- [201] Kommission der Europäischen Gemeinschaften (1966): Verordnung Nr. 136/66/EWG des Rates vom 22. September 1966. über die Errichtung einer gemeinsamen Marktorganisation für Fette. Amtsblatt der Europäischen Union L172.
- [202] Kommission der Europäischen Gemeinschaften (2003): Verordnung (EG) Nr. 1989/2003 der Kommission vom 6. November 2003. zur Änderung der Verordnung (EWG) Nr. 2568/91 über die Merkmale von Olivenölen und Oliventresterölen sowie die Verfahren zu ihrer Bestimmung. Amtsblatt der Europäischen Union L295/57.
- [203] FIEBIG, H.-J., Qualität und Vermarktung von Olivenölen in der Europäischen Union. www.bagkf.de/Olivenoelqualitaet.pdf (Stand: 07.12.2004).
- [204] MATISSEK, R. & STEINER, G. (2005): Lebensmittelanalytik. Vol. 3. Auflage. Springer Verlag, Heidelberg.
- [205] OWEN, R. W., MIER, W., GIACOSA, A., HULL, W. E., SPIEGELHALDER, B. & BARTSCH, H. (2000): Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clin Chem* 46 976-88.
- [206] OWEN, R. W., GIACOSA, A., HULL, W. E., HAUBNER, R., SPIEGELHALDER, B. & BARTSCH, H. (2000): The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. *Eur J Cancer* 36 1235-47.
- [207] CINQUANTA, L. E. A. (2001): Oxidative stability of virgin olive oils. *J Am Oil Chem Soc* 78 1197-1202.
- [208] BOSKOU, D. (2000): Olive oil. In Simopoulos, A. P. & Visiol, F. (Eds.), *Mediterranean diets*, Vol. 87, pp. 56-77. Karger Press, World Rev Nutr Diet, Basel.
- [209] ROBARDS, K., PRENZLER, P., TUCKER, G., SWATSITANG, P. & GLOVER, W. (1999): Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem* 66 401-436.
- [210] TOVAR, M. J., MOTILVA, M. J. & ROMERO, M. P. (2001): Changes in the phenolic composition of virgin olive oil from young trees (*Olea europaea* L. cv. Arbequina) grown under linear irrigation strategies. *J Agric Food Chem* 49 5502-8.
- [211] VISIOLI, F. (2000): Antioxidants in Mediterranean diets. *World Rev Nutr Diet* 87 43-55.
- [212] GALLI, C. & VISIOLI, F. (2001): Antioxidant properties of Mediterranean diet. *Int J Vitam Nutr Res* 71 185-8.
- [213] BRENES, M., GARCIA, A., GARCIA, P., RIOS, J. J. & GARRIDO, A. (1999): Phenolic compounds in Spanish olive oils. *J Agric Food Chem* 47 3535-40.
- [214] OWEN, R. W., MIER, W., GIACOSA, A., HULL, W. E., SPIEGELHALDER, B. & BARTSCH, H. (2000): Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignans and squalene. *Food Chem Toxicol* 38 647-59.

- [215] ROTONDI, A., BENDINI, A., CERRETANI, L., MARI, M., LERCKER, G. & TOSCHI, T. G. (2004): Effect of olive ripening degree on the oxidative stability and organoleptic properties of cv. Nostrana di Brisighella extra virgin olive oil. *J Agric Food Chem* 52 3649-54.
- [216] BRENES, M., GARCIA, A., DOBARGANES, M. C., VELASCO, J. & ROMERO, C. (2002): Influence of thermal treatments simulating cooking processes on the polyphenol content in virgin olive oil. *J Agric Food Chem* 50 5962-7.
- [217] ROMERO, M. P., TOVAR, M. J., GIRONA, J. & MOTILVA, M. J. (2002): Changes in the HPLC phenolic profile of virgin olive oil from young trees (*Olea europaea* L. Cv. Arbequina) grown under different deficit irrigation strategies. *J Agric Food Chem* 50 5349-54.
- [218] RASTRELLI, L., PASSI, S., IPPOLITO, F., VACCA, G. & DE SIMONE, F. (2002): Rate of Degradation of alpha-Tocopherol, Squalene, Phenolics, and Polyunsaturated Fatty Acids in Olive Oil during Different Storage Conditions. *J Agric Food Chem* 50 5566-70.
- [219] GIMENO, E., CASTELLOTE, A. I., LAMUELA-RAVENTOS, R. M., DE LA TORRE, C. & LOPEZ-SABATER MDL, C. (2002): The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, alpha-tocopherol, and beta-carotene) in virgin olive oil. *Food Chemistry* 78.
- [220] LIBERATORE, L., PROCIDA, G., D'ALESSANDRO, N. & CICHELLI, A. (2001): Solid-phase and gas chromatographic analysis of phenolic compounds in virgin olive oil. *Food Chemistry* 73 119-124.
- [221] TUCK, K. L. & HAYBALL, P. J. (2002): Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *J Nutr Biochem* 13 636-644.
- [222] MONTEDORO, G., SERVILI, M., BALDIOLI, M. & MINIATI, E. (1992): Simple and hydrolyzable phenolic compounds in virgin olive oil: their extraction, separation, and quantification and semiquantitative evaluation by HPLC. *J Agric Food Chem* 40 1571-1576.
- [223] CARUSO, D., COLOMBO, R., PATELLI, R., GIAVARINI, F. & GALLI, G. (2000): Rapid evaluation of phenolic component profile and analysis of oleuropein aglycon in olive oil by atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry (APCI-MS). *J Agric Food Chem* 48 1182-5.
- [224] VIERHUIS, E., SERVILI, M., BALDIOLI, M., SCHOLS, H. A., VORAGEN, A. G. & MONTEDORO, G. F. (2001): Effect of enzyme treatment during mechanical extraction of olive oil on phenolic compounds and polysaccharides. *J Agric Food Chem* 49 1218-23.
- [225] PSOMIADOU, E., TSIMIDOU, M. & BOSKOU, D. (2000): alpha-tocopherol content of Greek virgin olive oils. *J Agric Food Chem* 48 1770-5.
- [226] PSOMIADOU, E. & TSIMIDOU, M. (1999): On the role of squalene in olive oil stability. *J Agric Food Chem* 47 4025-32.
- [227] DE LEONARDIS, A. & MACCIOLA, V. (1998): Evaluation of the shelf-life of virgin olive oil. *Riv Ital Sostanze Grasse* 78 391-396.
- [228] BOSKOU, D. (1996): Olive oil, Chemistry and Technology. AOCS Press, Champaign.
- [229] LARSEN, L. F., JESPERSEN, J. & MARCKMANN, P. (1999): Are olive oil diets antithrombotic? Diets enriched with olive, rapeseed, or sunflower oil affect postprandial factor VII differently. *Am J Clin Nutr* 70 976-82.
- [230] SERRA-MAJEM, L., NGO DE LA CRUZ, J., RIBAS, L. & TUR, J. A. (2003): Olive oil and the Mediterranean diet: beyond the rhetoric. *Eur J Clin Nutr* 57 Suppl 1 S2-7.
- [231] GOMEZ-ALONSO, S., SALVADOR, M. D. & FREGAPANE, G. (2002): Phenolic compounds profile of cornicabra virgin olive oil. *J Agric Food Chem* 50 6812-7.
- [232] SCALBERT, A. & WILLIAMSON, G. (2000): Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *J Nutr* 130 2073S-85S.

- [233] SCALBERT, A., MORAND, C., MANACH, C. & REMESY, C. (2002): Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. *Biomed Pharmacother* 56 276-82.
- [234] MANACH, C., WILLIAMSON, G., MORAND, C., SCALBERT, A. & REMESY, C. (2005): Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. *Am J Clin Nutr* 81 230S-242S.
- [235] MANACH, C., SCALBERT, A., MORAND, C., REMESY, C. & JIMENEZ, L. (2004): Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr* 79 727-47.
- [236] VISIOLI, F., GALLI, C., BORNET, F., MATTEI, A., PATELLI, R., GALLI, G. & CARUSO, D. (2000): Olive oil phenolics are dose-dependently absorbed in humans. *FEBS Lett* 468 159-60.
- [237] VISIOLI, F., CARUSO, D., PLASMATI, E., PATELLI, R., MULINACCI, N., ROMANI, A., GALLI, G. & GALLI, C. (2001): Hydroxytyrosol, as a component of olive mill waste water, is dose-dependently absorbed and increases the antioxidant capacity of rat plasma. *Free Radic Res* 34 301-5.
- [238] BONANOME, A., PAGNAN, A., CARUSO, D., TOIA, A., XAMIN, A., FEDELI, E., BERRA, B., ZAMBURLINI, A., URSINI, F. & GALLI, G. (2000): Evidence of postprandial absorption of olive oil phenols in humans. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 10 111-20.
- [239] BAI, C., YAN, X., TAKENAKA, M., SEKIYA, S. & NAGATA, T. (1998): Determination of synthetic hydroxytyrosol in rat plasma by Gc-MS. *J Agric Food Chem* 46 3998-4001.
- [240] CARUSO, D., VISIOLI, F., PATELLI, R., GALLI, C. & GALLI, G. (2001): Urinary excretion of olive oil phenols and their metabolites in humans. *Metabolism* 50 1426-8.
- [241] D'ANGELO, S., MANNA, C., MIGLIARDI, V., MAZZONI, O., MORRICA, P., CAPASSO, G., PONTONI, G., GALLETTI, P. & ZAPPÀ, V. (2001): Pharmacokinetics and metabolism of hydroxytyrosol, a natural antioxidant from olive oil. *Drug Metab Dispos* 29 1492-8.
- [242] MIRO-CASAS, E., FARRE ALBALADEJO, M., COVAS, M. I., RODRIGUEZ, J. O., MENOYO COLOMER, E., LAMUELA RAVENTOS, R. M. & DE LA TORRE, R. (2001): Capillary gas chromatography-mass spectrometry quantitative determination of hydroxytyrosol and tyrosol in human urine after olive oil intake. *Anal Biochem* 294 63-72.
- [243] MIRO CASAS, E., FARRE ALBADALEJO, M., COVAS PLANELLS, M. I., FITO COLOMER, M., LAMUELA RAVENTOS, R. M. & DE LA TORRE FORNELL, R. (2001): Tyrosol bioavailability in humans after ingestion of virgin olive oil. *Clin Chem* 47 341-3.
- [244] TUCK, K. L., HAYBALL, P. J. & STUPANS, I. (2002): Structural characterization of the metabolites of hydroxytyrosol, the principal phenolic component in olive oil, in rats. *J Agric Food Chem* 50 2404-9.
- [245] TUCK, K. L., FREEMAN, M. P., HAYBALL, P. J., STRETCH, G. L. & STUPANS, I. (2001): The in vivo fate of hydroxytyrosol and tyrosol, antioxidant phenolic constituents of olive oil, after intravenous and oral dosing of labeled compounds to rats. *J Nutr* 131 1993-6.
- [246] WEINBRENNER, T., FITO, M., FARRE ALBALADEJO, M., SAEZ, G. T., RIJKEN, P., TORMOS, C., COOLEN, S., DE LA TORRE, R. & COVAS, M. I. (2004): Bioavailability of phenolic compounds from olive oil and oxidative/antioxidant status at postprandial state in healthy humans. *Drugs Exp Clin Res* 30 207-12.
- [247] VISSERS, M. N., ZOCC, P. L., ROODENBURG, A. J., LEENEN, R. & KATAN, M. B. (2002): Olive oil phenols are absorbed in humans. *J Nutr* 132 409-17.
- [248] EDGEcombe, S. C., STRETCH, G. L. & HAYBALL, P. J. (2000): Oleuropein, an antioxidant polyphenol from olive oil, is poorly absorbed from isolated perfused rat intestine. *J Nutr* 130 2996-3002.

- [249] MANNA, C., GALLETI, P., MAISTO, G., CUCCIOLLA, V., D'ANGELO, S. & ZAPPIA, V. (2000): Transport mechanism and metabolism of olive oil hydroxytyrosol in Caco-2 cells. *FEBS Lett* 470 341-4.
- [250] MIRO-CASAS, E., COVAS, M. I., FARRE, M., FITO, M., ORTUNO, J., WEINBRENNER, T., ROSET, P. & DE LA TORRE, R. (2003): Hydroxytyrosol disposition in humans. *Clin Chem* 49 945-52.
- [251] XU, C. L. & SIM, M. K. (1995): Reduction of dihydroxyphenylacetic acid by a novel enzyme in the rat brain. *Biochem Pharmacol* 50 1333-7.
- [252] LEENEN, R., ROODENBURG, A. J., VISSERS, M. N., SCHURBIERS, J. A., VAN PUTTE, K. P., WISEMAN, S. A. & VAN DE PUT, F. H. (2002): Supplementation of plasma with olive oil phenols and extracts: influence on LDL oxidation. *J Agric Food Chem* 50 1290-7.
- [253] VISIOLI, F. & GALLI, C. (1998): The effect of minor constituents of olive oil on cardiovascular disease: new findings. *Nutr Rev* 56 142-7.
- [254] CARUSO, D., BERRA, B., GIAVARINI, F., CORTESI, N., FEDELI, E. & GALLI, G. (1999): Effect of virgin olive oil phenolic compounds on in vitro oxidation of human low density lipoproteins. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 9 102-7.
- [255] VISIOLI, F. & GALLI, C. (1994): Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Life Sci* 55 1965-71.
- [256] COVAS, M. I., FITO, M., LAMUELA-RAVENTOS, R. M., SEBASTIA, N., DE LA TORRE-BORONAT, C. & MARRUGAT, J. (2000): Virgin olive oil phenolic compounds: binding to human low density lipoprotein (LDL) and effect on LDL oxidation. *Int J Clin Pharmacol Res* 20 49-54.
- [257] CONI, E., DI BENEDETTO, R., DI PASQUALE, M., MASELLA, R., MODESTI, D., MATTEI, R. & CARLINI, E. A. (2000): Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids* 35 45-54.
- [258] BENKHALTI, F., LEGSSYER, A., GOMEZ, P., PAZ, E., LOPEZ-MIRANDA, J., PEREZ-JIMENEZ, F. & EL BOUSTANI, E. S. (2003): Effects of virgin olive oil phenolic compounds on LDL oxidation and vasorelaxation activity. *Therapie* 58 133-7.
- [259] WISEMAN, S. A., MATHOT, J. N., DE FOUW, N. J. & TIJBURG, L. B. (1996): Dietary non-tocopherol antioxidants present in extra virgin olive oil increase the resistance of low density lipoproteins to oxidation in rabbits. *Atherosclerosis* 120 15-23.
- [260] SCACCINI, C., NARDINI, M., D'AQUINO, M., GENTILI, V., DI FELICE, M. & TOMASSI, G. (1992): Effect of dietary oils on lipid peroxidation and on antioxidant parameters of rat plasma and lipoprotein fractions. *J Lipid Res* 33 627-33.
- [261] ESTERBAUER, H. (1992): Lipid peroxidation and its role in atherosclerosis. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2 55-57.
- [262] ESTERBAUER, H. (1995): The chemistry of oxidation of lipoproteins. In Rice-Evans, C. A. & Bruckdorfer, K. R. (Eds.), *Oxidative stress, lipoproteins and cardiovascular dysfunction*, pp. 55-80. Portland Press Ltd., London.
- [263] MASELLA, R., VARI, R., D'ARCHIVIO, M., DI BENEDETTO, R., MATARRESE, P., MALORNI, W., SCAZZOCCHIO, B. & GIOVANNINI, C. (2004): Extra virgin olive oil biophenols inhibit cell-mediated oxidation of LDL by increasing the mRNA transcription of glutathione-related enzymes. *J Nutr* 134 785-91.
- [264] STUPANS, I., KIRLICH, A., TUCK, K. L. & HAYBALL, P. J. (2002): Comparison of radical scavenging effect, inhibition of microsomal oxygen free radical generation, and serum lipoprotein oxidation of several natural antioxidants. *J Agric Food Chem* 50 2464-9.

- [265] VALAVANIDIS, A., NISIOTOU, C., PAPAGEORGIOU, Y., KREMLI, I., SATRAVELAS, N., ZINIERIS, N. & ZYGALAKI, H. (2004): Comparison of the radical scavenging potential of polar and lipidic fractions of olive oil and other vegetable oils under normal conditions and after thermal treatment. *J Agric Food Chem* 52 2358-65.
- [266] GUTIERREZ, V. R., DE LA PUERTA, R. & CATALA, A. (2001): The effect of tyrosol, hydroxytyrosol and oleuropein on the non-enzymatic lipid peroxidation of rat liver microsomes. *Mol Cell Biochem* 217 35-41.
- [267] DE LA CRUZ, J. P., QUINTERO, L., VILLALOBOS, M. A. & SANCHEZ DE LA CUESTA, F. (2000): Lipid peroxidation and glutathione system in hyperlipemic rabbits: influence of olive oil administration. *Biochim Biophys Acta* 1485 36-44.
- [268] KOHYAMA, N., NAGATA, T., FUJIMOTO, S. & SEKIYA, K. (1997): Inhibition of arachidonate lipoxygenase activities by 2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol, a phenolic compound from olives. *Biosci Biotechnol Biochem* 61 347-50.
- [269] DE LA PUERTA, R., RUIZ GUTIERREZ, V. & HOULT, J. R. (1999): Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem Pharmacol* 57 445-9.
- [270] DE LA PUERTA, R., MARTINEZ-DOMINGUEZ, E. & RUIZ-GUTIERREZ, V. (2000): Effect of minor components of virgin olive oil on topical antiinflammatory assays. *Z Naturforsch [C]* 55 814-9.
- [271] PETRONI, A., BLASEVICH, M., PAPINI, N., SALAMI, M., SALA, A. & GALLI, C. (1997): Inhibition of leukocyte leukotriene B4 production by an olive oil-derived phenol identified by mass-spectrometry. *Thromb Res* 87 315-22.
- [272] PETRONI, A., BLASEVICH, M., SALAMI, M., PAPINI, N., MONTEDORO, G. F. & GALLI, C. (1995): Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res* 78 151-60.
- [273] VISIOLI, F., GALLI, C., PLASMATI, E., VIAPPANI, S., HERNANDEZ, A., COLOMBO, C. & SALA, A. (2000): Olive phenol hydroxytyrosol prevents passive smoking-induced oxidative stress. *Circulation* 102 2169-71.
- [274] QUILES, J. L., FARQUHARSON, A. J., SIMPSON, D. K., GRANT, I. & WAHLE, K. W. (2002): Olive oil phenolics: effects on DNA oxidation and redox enzyme mRNA in prostate cells. *Br J Nutr* 88 225-234.
- [275] VISIOLI, F., BELLOSTA, S. & GALLI, C. (1998): Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci* 62 541-6.
- [276] RAMIREZ-TORTOSA, M. C., URBANO, G., LOPEZ-JURADO, M., NESTARES, T., GOMEZ, M. C., MIR, A., ROS, E., MATAIX, J. & GIL, A. (1999): Extra-virgin olive oil increases the resistance of LDL to oxidation more than refined olive oil in free-living men with peripheral vascular disease. *J Nutr* 129 2177-83.
- [277] MASELLA, R., GIOVANNINI, C., VARI, R., DI BENEDETTO, R., CONI, E., VOLPE, R., FRAONE, N. & BUCCI, A. (2001): Effects of dietary virgin olive oil phenols on low density lipoprotein oxidation in hyperlipidemic patients. *Lipids* 36 1195-202.
- [278] VISSERS, M. N., ZOCK, P. L., WISEMAN, S. A., MEYBOOM, S. & KATAN, M. B. (2001): Effect of phenol-rich extra virgin olive oil on markers of oxidation in healthy volunteers. *Eur J Clin Nutr* 55 334-41.
- [279] VISSERS, M. N., ZOCK, P. L., LEENEN, R., ROODENBURG, A. J., VAN PUTTE, K. P. & KATAN, M. B. (2001): Effect of consumption of phenols from olives and extra virgin olive oil on LDL oxidizability in healthy humans. *Free Radic Res* 35 619-29.

- [280] VISIOLI, F., CARUSO, D., GALLI, C., VIAPPANI, S., GALLI, G. & SALA, A. (2000): Olive oils rich in natural catecholic phenols decrease isoprostane excretion in humans. *Biochem Biophys Res Commun* 278 797-9.
- [281] OKOGERI, O. & TASIOULA-MARGARI, M. (2002): Changes occurring in phenolic compounds and alpha-tocopherol of virgin olive oil during storage. *J Agric Food Chem* 50 1077-80.
- [282] KNUßMANN, R. (1988): Anthropologie. Handbuch der vergleichenden Biologie des Menschen. Vol. Band I, 1. Fischer Verlag, Stuttgart.
- [283] ARONNE, L. J. (2002): Classification of obesity and assessment of obesity-related health risks. *Obes Res* 10 105S-115S.
- [284] NG, K. G. & SMALL, C. F. (1994): Survey of automated noninvasive blood pressure monitors. *J Clin Eng* 19 452-75.
- [285] FERRARI, P. & MUGGLI, F. (2001): Blutdruckmessung: wie, wo, mit welchem Gerät? *Schweiz Med Forum* 22 582-86.
- [286] SENSER, F. & SCHERZ, H. (1991): Der kleine 'Souci-Fachmann-Kraut', Lebensmitteltabelle für die Praxis. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart.
- [287] BLOCH, W. & SCHMIDT, A. (2004): Sport und Freie Radikale. *Der Mann - Wissenschaftliches Journal für Männergesundheit* 2 13-18.
- [288] ELOSUA, R., MARRUGAT, J., MOLINA, L., PONS, S. & PUJOL, E. (1994): Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish men. The MARATHOM Investigators. *Am J Epidemiol* 139 1197-209.
- [289] TAYLOR, H. L., JACOBS, D. R., JR., SCHUCKER, B., KNUDSEN, J., LEON, A. S. & DEBACKER, G. (1978): A questionnaire for the assessment of leisure time physical activities. *J Chronic Dis* 31 741-55.
- [290] CONWAY, J. M., IRWIN, M. L. & AINSWORTH, B. E. (2002): Estimating energy expenditure from the Minnesota Leisure Time Physical Activity and Tecumseh Occupational Activity questionnaires - a doubly labeled water validation. *J Clin Epidemiol* 55 392-9.
- [291] KOEBNICK, C., WAGNER, K., THIELECKE, F., MOESENEDER, J., HOEHNE, A., FRANKE, A., MEYER, H., GARCIA, A. L., TRIPPO, U. & ZUNFT, H. J. (2005): Validation of a simplified physical activity record by doubly labeled water technique. *Int J Obes (Lond)* 29 302-9.
- [292] AINSWORTH, B. E., HASKELL, W. L., WHITT, M. C., IRWIN, M. L., SWARTZ, A. M., STRATH, S. J., O'BRIEN, W. L., BASSETT, D. R., JR., SCHMITZ, K. H., EMPLAINCOURT, P. O., JACOBS, D. R., JR. & LEON, A. S. (2000): Compendium of physical activities: an update of activity codes and MET intensities. *Med Sci Sports Exerc* 32 S498-504.
- [293] WEINBRENNER, T., CLADELLAS, M., ISABEL COVAS, M., FITO, M., TOMAS, M., SENTI, M., BRUGUERA, J. & MARRUGAT, J. (2003): High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. *Atherosclerosis* 168 99-106.
- [294] FITO, M., CLADELLAS, M., DE LA TORRE, R., MARTI, J., ALCANTARA, M., PUJADAS-BASTARDES, M., MARRUGAT, J., BRUGUERA, J., LOPEZ-SABATER, M. C., VILA, J. & COVAS, M. I. (2005): Antioxidant effect of virgin olive oil in patients with stable coronary heart disease: a randomized, crossover, controlled, clinical trial. *Atherosclerosis* 181 149-158.
- [295] FRIEDEWALD, W. T., LEVY, R. I. & FREDRICKSON, D. S. (1972): Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 18 499-502.
- [296] MERCODIA, AB, Uppsala, Schweden, Mercodia oxidized LDL ELISA Enzyme Immunoassay. http://www.mercodia.se/global/mainpage.asp?page_id=79 (Stand: 20.01.2005).

- [297] WIELAND, H. & SEIDEL, D. (1983): A simple specific method for precipitation of low density lipoproteins. *J Lipid Res* 24 904-9.
- [298] SCHUMAKER, V. N. & PUPPIONE, D. L. (1986): Sequential flotation ultracentrifugation. *Methods Enzymol* 128 155-70.
- [299] AHOTUPA, M., RUUTU, M. & MANTYLA, E. (1996): Simple methods of quantifying oxidation products and antioxidant potential of low density lipoproteins. *Clin Biochem* 29 139-44.
- [300] MORROW, J. D. & ROBERTS, L. J., 2ND (1999): Mass spectrometric quantification of F2-isoprostanes in biological fluids and tissues as measure of oxidant stress. *Methods Enzymol* 300 3-12.
- [301] FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE STANLEY, G. H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J Biol Chem* 226 497-509.
- [302] WILSON, R., SMITH, R., WILSON, P., SHEPHERD, M. J. & RIEMERSMA, R. A. (1997): Quantitative gas chromatography-mass spectrometry isomer-specific measurement of hydroxy fatty acids in biological samples and food as a marker of lipid peroxidation. *Anal Biochem* 248 76-85.
- [303] PAGLIA, D. E. & VALENTINE, W. N. (1967): Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70 158-69.
- [304] FITO, M., GIMENO, E., COVAS, M. I., MIRO, E., LOPEZ-SABATER MDEL, C., FARRE, M., DE, T. R. & MARRUGAT, J. (2002): Postprandial and short-term effects of dietary virgin olive oil on oxidant/antioxidant status. *Lipids* 37 245-51.
- [305] AKERBOOM, T. P. & SIES, H. (1981): Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol* 77 373-82.
- [306] ASENSI, M., SASTRE, J., PALLARDO, F. V., ESTRELA, J. M. & VINA, J. (1994): Determination of oxidized glutathione in blood: high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol* 234 367-71.
- [307] ASENSI, M., SASTRE, J., PALLARDO, F. V., GARCIA DE LA ASUNCION, J., ESTRELA, J. M. & VINA, J. (1994): A high-performance liquid chromatography method for measurement of oxidized glutathione in biological samples. *Anal Biochem* 217 323-8.
- [308] SENTI, M., TOMAS, M., FITO, M., WEINBRENNER, T., COVAS, M. I., SALA, J., MASIA, R. & MARRUGAT, J. (2003): Antioxidant paraoxonase 1 activity in the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 88 5422-6.
- [309] FLOHE, L. & OTTING, F. (1984): Superoxide dismutase assays. *Methods Enzymol* 105 93-104.
- [310] MARRUGAT, J., COVAS, M. I., FITO, M., SCHRODER, H., MIRO-CASAS, E., GIMENO, E., LOPEZ-SABATER, M. C., DE LA TORRE, R. & FARRE, M. (2004): Effects of differing phenolic content in dietary olive oils on lipids and LDL oxidation--a randomized controlled trial. *Eur J Nutr* 43 140-7.
- [311] WEINBRENNER, T., FITO, M., DE LA TORRE, R., SAEZ, G. T., RIJKEN, P., TORMOS, C., COOLEN, S., ALBALADEJO, M. F., ABANADES, S., SCHRODER, H., MARRUGAT, J. & COVAS, M. I. (2004): Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *J Nutr* 134 2314-21.
- [312] World Health Organisation (1998): Obesity - a major global public health problem. Geneva.
- [313] THOMAS, L. (1992): Labor und Diagnose - Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik. Vol. 4. Auflage. Medizinische Verlagsgesellschaft, Marburg.
- [314] BLAND, J. M. & ALTMAN, D. G. (1995): Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet* 346 1085-7.

- [315] VISIOLI, F., BOGANI, P., GRANDE, S. & GALLI, C. (2005): Mediterranean food and health: building human evidence. *J Physiol Pharmacol* 56 Suppl 1 37-49.
- [316] MANNA, C., GALLETTI, P., CUCCIOLLA, V., MOLTEDO, O., LEONE, A. & ZAPPIA, V. (1997): The protective effect of the olive oil polyphenol (3,4-dihydroxyphenyl)-ethanol counteracts reactive oxygen metabolite-induced cytotoxicity in Caco-2 cells. *J Nutr* 127 286-92.
- [317] NIELSEN, N. S., PEDERSEN, A., SANDSTROM, B., MARCKMANN, P. & HOY, C. E. (2002): Different effects of diets rich in olive oil, rapeseed oil and sunflower-seed oil on postprandial lipid and lipoprotein concentrations and on lipoprotein oxidation susceptibility. *Br J Nutr* 87 489-99.
- [318] FREESE, R., ALFTHAN, G., JAUHAINEN, M., BASU, S., ERLUND, I., SALMINEN, I., ARO, A. & MUTANEN, M. (2002): High intakes of vegetables, berries, and apples combined with a high intake of linoleic or oleic acid only slightly affect markers of lipid peroxidation and lipoprotein metabolism in healthy subjects. *Am J Clin Nutr* 76 950-60.
- [319] REAVEN, P., PARTHASARATHY, S., GRASSE, B. J., MILLER, E., STEINBERG, D. & WITZTUM, J. L. (1993): Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects. *J Clin Invest* 91 668-76.
- [320] PEDERSEN, A., BAUMSTARK, M. W., MARCKMANN, P., GYLLING, H. & SANDSTROM, B. (2000): An olive oil-rich diet results in higher concentrations of LDL cholesterol and a higher number of LDL subfraction particles than rapeseed oil and sunflower oil diets. *J Lipid Res* 41 1901-11.
- [321] COLAVITTI, R. & FINKEL, T. (2005): Reactive oxygen species as mediators of cellular senescence. *IUBMB Life* 57 277-81.
- [322] LAU, F. C., SHUKITT-HALE, B. & JOSEPH, J. A. (2005): The beneficial effects of fruit polyphenols on brain aging. *Neurobiol Aging* 26 Suppl 1 128-32.
- [323] MCEWEN, J. E., ZIMNIAK, P., MEHTA, J. L. & REIS, R. J. (2005): Molecular pathology of aging and its implications for senescent coronary atherosclerosis. *Curr Opin Cardiol* 20 399-406.
- [324] JAIMES, E. A., DEMASTER, E. G., TIAN, R. X. & RAIJ, L. (2004): Stable compounds of cigarette smoke induce endothelial superoxide anion production via NADPH oxidase activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24 1031-6.
- [325] HO, Y. S., LIOU, H. B., LIN, J. K., JENG, J. H., PAN, M. H., LIN, Y. P., GUO, H. R., HO, S. Y., LEE, C. C. & WANG, Y. J. (2002): Lipid peroxidation and cell death mechanisms in pulmonary epithelial cells induced by peroxynitrite and nitric oxide. *Arch Toxicol* 76 484-93.
- [326] KODAMA, M., KANEKO, M., AIDA, M., INOUE, F., NAKAYAMA, T. & AKIMOTO, H. (1997): Free radical chemistry of cigarette smoke and its implication in human cancer. *Anticancer Res* 17 433-7.
- [327] TSAI, K., HSU, T. G., HSU, K. M., CHENG, H., LIU, T. Y., HSU, C. F. & KONG, C. W. (2001): Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. *Free Radic Biol Med* 31 1465-72.
- [328] DI MEO, S. & VENDITTI, P. (2001): Mitochondria in exercise-induced oxidative stress. *Biol Signals Recept* 10 125-40.
- [329] AVIRAM, M. & EIAS, K. (1993): Dietary olive oil reduces low-density lipoprotein uptake by macrophages and decreases the susceptibility of the lipoprotein to undergo lipid peroxidation. *Ann Nutr Metab* 37 75-84.
- [330] KANNEL, W. B. (1996): Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *Jama* 275 1571-6.
- [331] PICKERING, T. G., GERIN, W. & SCHWARTZ, A. R. (2002): What is the white-coat effect and how should it be measured? *Blood Press Monit* 7 293-300.

- [332] TREVISAN, M., KROGH, V., FREUDENHEIM, J., BLAKE, A., MUTI, P., PANICO, S., FARINARO, E., MANCINI, M., MENOTTI, A. & RICCI, G. (1990): Consumption of olive oil, butter, and vegetable oils and coronary heart disease risk factors. The Research Group ATS-RF2 of the Italian National Research Council. *Jama* 263 688-92.
- [333] WILLIAMS, P. T., FORTMANN, S. P., TERRY, R. B., GARAY, S. C., VRANIZAN, K. M., ELLSWORTH, N. & WOOD, P. D. (1987): Associations of dietary fat, regional adiposity, and blood pressure in men. *Jama* 257 3251-6.
- [334] FERRARA, L. A., RAIMONDI, A. S., D'EPISCOPO, L., GUIDA, L., DELLO RUSSO, A. & MAROTTA, T. (2000): Olive oil and reduced need for antihypertensive medications. *Arch Intern Med* 160 837-42.
- [335] RUIZ-GUTIERREZ, V., MURIANA, F. J., GUERRERO, A., CERT, A. M. & VILLAR, J. (1996): Plasma lipids, erythrocyte membrane lipids and blood pressure of hypertensive women after ingestion of dietary oleic acid from two different sources. *J Hypertens* 14 1483-90.
- [336] MENSINK, R. P., JANSSEN, M. C. & KATAN, M. B. (1988): Effect on blood pressure of two diets differing in total fat but not in saturated and polyunsaturated fatty acids in healthy volunteers. *Am J Clin Nutr* 47 976-80.
- [337] HULBERT, A. J., TURNER, N., STORLIEN, L. H. & ELSE, P. L. (2005): Dietary fats and membrane function: implications for metabolism and disease. *Biol Rev Camb Philos Soc* 80 155-69.
- [338] PHILIPSON, K. D. & WARD, R. (1985): Effects of fatty acids on Na⁺-Ca²⁺ exchange and Ca²⁺ permeability of cardiac sarcolemmal vesicles. *J Biol Chem* 260 9666-71.
- [339] MASI, I., GIANI, E., GALLI, C., TREMOLI, E. & SIRTORI, C. R. (1986): Diets rich in saturated, monounsaturated and polyunsaturated fatty acids differently affect plasma lipids, platelet and arterial wall eicosanoids in rabbits. *Ann Nutr Metab* 30 66-72.
- [340] KJELDSSEN, S. E., ERDINE, S., FARSANG, C., SLEIGHT, P. & MANCIA, G. (2002): 1999 WHO/ISH Hypertension Guidelines--highlights & ESH update. *J Hypertens* 20 153-5.
- [341] TRABULSI, J. & SCHOELLER, D. A. (2001): Evaluation of dietary assessment instruments against doubly labeled water, a biomarker of habitual energy intake. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281 E891-9.
- [342] MARTIN, L. J., SU, W., JONES, P. J., LOCKWOOD, G. A., TRITCHLER, D. L. & BOYD, N. F. (1996): Comparison of energy intakes determined by food records and doubly labeled water in women participating in a dietary-intervention trial. *Am J Clin Nutr* 63 483-90.
- [343] KOEBNICK, C., WAGNER, K., THIELECKE, F., DIETER, G., HOHNE, A., FRANKE, A., GARCIA, A. L., MEYER, H., HOFFMANN, I., LEITZMANN, P., TRIPPO, U. & ZUNFT, H. J. (2005): An easy-to-use semiquantitative food record validated for energy intake by using doubly labelled water technique. *Eur J Clin Nutr* 59 989-95.
- [344] ROTHENBERG, E., BOSAEUS, I., LERNFELT, B., LANDAHL, S. & STEEN, B. (1998): Energy intake and expenditure: validation of a diet history by heart rate monitoring, activity diary and doubly labeled water. *Eur J Clin Nutr* 52 832-8.
- [345] BLACK, A. E. (2000): The sensitivity and specificity of the Goldberg cut-off for EI:BMR for identifying diet reports of poor validity. *Eur J Clin Nutr* 54 395-404.
- [346] TOMOYASU, N. J., TOTH, M. J. & POEHLMAN, E. T. (1999): Misreporting of total energy intake in older men and women. *J Am Geriatr Soc* 47 710-5.
- [347] PRENTICE, A. M., BLACK, A. E., COWARD, W. A., DAVIES, H. L., GOLDBERG, G. R., MURGATROYD, P. R., ASHFORD, J., SAWYER, M. & WHITEHEAD, R. G. (1986): High levels of energy expenditure in obese women. *Br Med J (Clin Res Ed)* 292 983-7.
- [348] LISSNER, L. (2002): Measuring food intake in studies of obesity. *Public Health Nutr* 5 889-92.

- [349] GEDRICH, K. & KARG, G. (2004): Ernährungssituation in Deutschland, *Ernährungsbericht 2004*, pp. 21-73. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V., Bonn.
- [350] Umschau Braus GmbH (2000): Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr 1. Aufl. Frankfurt am Main.
- [351] TRAUTWEIN, E. A., HENNINGER, K. & ERBERSDOBLER, H. F. (1998): Ist die mediterrane Ernährung eine empfehlenswerte Ernährungsweise? *Ernährungs-Umschau* 45 359-364.
- [352] ASSMANN, G., CULLEN, P. & SCHULTE, H. (1998): The Munster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *Eur Heart J* 19 Suppl A A2-11.
- [353] VERSCHUREN, W. M., JACOBS, D. R., BLOEMBERG, B. P., KROMHOUT, D., MENOTTI, A., ARAVANIS, C., BLACKBURN, H., BUZINA, R., DONTAS, A. S., FIDANZA, F. & ET AL. (1995): Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. *Jama* 274 131-6.
- [354] GORDON, D. J., PROBSTFIELD, J. L., GARRISON, R. J., NEATON, J. D., CASTELLI, W. P., KNOKE, J. D., JACOBS, D. R., JR., BANGDIWALA, S. & TYROLER, H. A. (1989): High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease. Four prospective American studies. *Circulation* 79 8-15.
- [355] KEYS, A. (1970): Coronary heart disease in the seven countries. *Circulation* 41 1-211.
- [356] MATTSON, F. H. & GRUNDY, S. M. (1985): Comparison of effects of dietary saturated, monounsaturated, and polyunsaturated fatty acids on plasma lipids and lipoproteins in man. *J Lipid Res* 26 194-202.
- [357] GRUNDY, S. M. & DENKE, M. A. (1990): Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. *J Lipid Res* 31 1149-72.
- [358] PUIGGROS, C., CHACON, P., ARMADANS, L. I., CLAPES, J. & PLANAS, M. (2002): Effects of oleic-rich and omega-3-rich diets on serum lipid pattern and lipid oxidation in mildly hypercholesterolemic patients. *Clin Nutr* 21 79-87.
- [359] FERNANDEZ DE LA PUEBLA, R. A., FUENTES, F., PEREZ-MARTINEZ, P., SANCHEZ, E., PANIAGUA, J. A., LOPEZ-MIRANDA, J. & PEREZ-JIMENEZ, F. (2003): A reduction in dietary saturated fat decreases body fat content in overweight, hypercholesterolemic males. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 13 273-7.
- [360] GARDNER, C. D. & KRAEMER, H. C. (1995): Monounsaturated versus polyunsaturated dietary fat and serum lipids. A meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15 1917-27.
- [361] KRIS-ETHERTON, P. M., PEARSON, T. A., WAN, Y., HARGROVE, R. L., MORIARTY, K., FISHELL, V. & ETHERTON, T. D. (1999): High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations. *Am J Clin Nutr* 70 1009-15.
- [362] WILLIAMS, C. M. (2001): Beneficial nutritional properties of olive oil: implications for postprandial lipoproteins and factor VII. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 11 51-6.
- [363] KRIS-ETHERTON, P. M., DERR, J., MITCHELL, D. C., MUSTAD, V. A., RUSSELL, M. E., MCDONNELL, E. T., SALABSKY, D. & PEARSON, T. A. (1993): The role of fatty acid saturation on plasma lipids, lipoproteins, and apolipoproteins: I. Effects of whole food diets high in cocoa butter, olive oil, soybean oil, dairy butter, and milk chocolate on the plasma lipids of young men. *Metabolism* 42 121-9.
- [364] JANSEN, S., LOPEZ-MIRANDA, J., CASTRO, P., LOPEZ-SEGURA, F., MARIN, C., ORDOVAS, J. M., PAZ, E., JIMENEZ-PEREPEREZ, J., FUENTES, F. & PEREZ-JIMENEZ, F. (2000): Low-fat and high-monounsaturated fatty acid diets decrease plasma cholesterol ester transfer protein concentrations in young, healthy, normolipemic men. *Am J Clin Nutr* 72 36-41.
- [365] FUENTES, F., LOPEZ-MIRANDA, J., SANCHEZ, E., SANCHEZ, F., PAEZ, J., PAZ-ROJAS, E., MARIN, C., GOMEZ, P., JIMENEZ-PEREPEREZ, J., ORDOVAS, J. M. & PEREZ-JIMENEZ, F. (2001): Mediterranean

- and low-fat diets improve endothelial function in hypercholesterolemic men. *Ann Intern Med* 134 1115-9.
- [366] KRATZ, M., CULLEN, P., KANNENBERG, F., KASSNER, A., FOBKER, M., ABUJA, P. M., ASSMANN, G. & WAHRBURG, U. (2002): Effects of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low-density lipoprotein. *Eur J Clin Nutr* 56 72-81.
- [367] LICHTENSTEIN, A. H., AUSMAN, L. M., CARRASCO, W., JENNER, J. L., GUALTIERI, L. J., GOLDIN, B. R., ORDOVAS, J. M. & SCHAEFER, E. J. (1993): Effects of canola, corn, and olive oils on fasting and postprandial plasma lipoproteins in humans as part of a National Cholesterol Education Program Step 2 diet. *Arterioscler Thromb* 13 1533-42.
- [368] MATA, P., ALVAREZ-SALA, L. A., RUBIO, M. J., NUNO, J. & DE OYA, M. (1992): Effects of long-term monounsaturated- vs polyunsaturated-enriched diets on lipoproteins in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 55 846-50.
- [369] NYDAHL, M. C., GUSTAFSSON, I. B. & VESSBY, B. (1994): Lipid-lowering diets enriched with monounsaturated or polyunsaturated fatty acids but low in saturated fatty acids have similar effects on serum lipid concentrations in hyperlipidemic patients. *Am J Clin Nutr* 59 115-22.
- [370] CHOUDHURY, N., TAN, L. & TRUSWELL, A. S. (1995): Comparison of palmolein and olive oil: effects on plasma lipids and vitamin E in young adults. *Am J Clin Nutr* 61 1043-51.
- [371] MORENO, J. J. & MITJAVILA, M. T. (2003): The degree of unsaturation of dietary fatty acids and the development of atherosclerosis (review). *J Nutr Biochem* 14 182-95.
- [372] MENSINK, R. P. & KATAN, M. B. (1987): Effect of monounsaturated fatty acids versus complex carbohydrates on high-density lipoproteins in healthy men and women. *Lancet* 1 122-5.
- [373] RAMIREZ-TORTOSA, M. C., AGUILERA, C. M., QUILES, J. L. & GIL, A. (1998): Influence of dietary lipids on lipoprotein composition and LDL Cu(2+)-induced oxidation in rabbits with experimental atherosclerosis. *Biofactors* 8 79-85.
- [374] FKI, I., BOUAZIZ, M., SAHNOUN, Z. & SAYADI, S. (2005): Hypocholesterolemic effects of phenolic-rich extracts of Chemlali olive cultivar in rats fed a cholesterol-rich diet. *Bioorg Med Chem* 13 5362-70.
- [375] MANGAS-CRUZ, M. A., FERNANDEZ-MOYANO, A., ALBI, T., GUINDA, A., RELIMPIO, F., LANZON, A., PEREIRA, J. L., SERRERA, J. L., MONTILLA, C., ASTORGA, R. & GARCIA-LUNA, P. P. (2001): Effects of minor constituents (non-glyceride compounds) of virgin olive oil on plasma lipid concentrations in male Wistar rats. *Clin Nutr* 20 211-5.
- [376] EBRAHIM SAJJADI, S., MOVAHEDIAN ATAR, A. M. & YEKTAIAN, A. (1998): Antihyperlipidemic effect of hydroalcoholic extract, and polyphenolic fraction from *Dracocephalum kotschy* Boiss. *Pharm Acta Helv* 73 167-70.
- [377] SEO, H. J., JEONG, K. S., LEE, M. K., PARK, Y. B., JUNG, U. J., KIM, H. J. & CHOI, M. S. (2003): Role of naringin supplement in regulation of lipid and ethanol metabolism in rats. *Life Sci* 73 933-46.
- [378] MURSU, J., VOUTILAINEN, S., NURMI, T., RISSANEN, T. H., VIRTANEN, J. K., KAIKKONEN, J., NYSSONEN, K. & SALONEN, J. T. (2004): Dark chocolate consumption increases HDL cholesterol concentration and chocolate fatty acids may inhibit lipid peroxidation in healthy humans. *Free Radic Biol Med* 37 1351-9.
- [379] KUROWSKA, E. M., SPENCE, J. D., JORDAN, J., WETMORE, S., FREEMAN, D. J., PICHE, L. A. & SERRATORE, P. (2000): HDL-cholesterol-raising effect of orange juice in subjects with hypercholesterolemia. *Am J Clin Nutr* 72 1095-100.

- [380] HANDELMAN, G. J. & PRYOR, W. A. (2000): Evaluation of Antioxidant Status in Humans. In Papas, A. M. (Ed.), *Antioxidant Status, Diet, Nutrition and Health*, pp. 37-64. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- [381] PARTHASARATHY, S., KHOO, J. C., MILLER, E., BARNETT, J., WITZTUM, J. L. & STEINBERG, D. (1990): Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: implications for dietary prevention of atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87 3894-8.
- [382] QUILES, J. L., OCHOA, J. J., RAMIREZ-TORTOSA, C., BATTINO, M., HUERTAS, J. R., MARTIN, Y. & MATAIX, J. (2004): Dietary fat type (virgin olive vs. sunflower oils) affects age-related changes in DNA double-strand-breaks, antioxidant capacity and blood lipids in rats. *Exp Gerontol* 39 1189-98.
- [383] TSIMIKAS, S., PHILIS-TSIMIKAS, A., ALEXOPOULOS, S., SIGARI, F., LEE, C. & REAVEN, P. D. (1999): LDL isolated from Greek subjects on a typical diet or from American subjects on an oleate-supplemented diet induces less monocyte chemotaxis and adhesion when exposed to oxidative stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19 122-30.
- [384] BARONI, S. S., AMELIO, M., SANGIORGI, Z., GADDI, A. & BATTINO, M. (1999): Solid monounsaturated diet lowers LDL unsaturation trait and oxidisability in hypercholesterolemic (type IIb) patients. *Free Radic Res* 30 275-85.
- [385] GIMENO, E., FITO, M., LAMUELA-RAVENTOS, R. M., CASTELLOTE, A. I., COVAS, M., FARRE, M., DE LA TORRE-BORONAT, M. C. & LOPEZ-SABATER, M. C. (2002): Effect of ingestion of virgin olive oil on human low-density lipoprotein composition. *Eur J Clin Nutr* 56 114-20.
- [386] LEE, C., BARNETT, J. & REAVEN, P. D. (1998): Liposomes enriched in oleic acid are less susceptible to oxidation and have less proinflammatory activity when exposed to oxidizing conditions. *J Lipid Res* 39 1239-47.
- [387] MATA, P., ALONSO, R., LOPEZ-FARRE, A., ORDOVAS, J. M., LAHOZ, C., GARCES, C., CARAMELO, C., CODOCEO, R., BLAZQUEZ, E. & DE OYA, M. (1996): Effect of dietary fat saturation on LDL oxidation and monocyte adhesion to human endothelial cells in vitro. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16 1347-55.
- [388] LAMUELA-RAVENTOS, R. M., GIMENO, E., FITO, M., CASTELLOTE, A. I., COVAS, M., DE LA TORRE-BORONAT, M. C. & LOPEZ-SABATER, M. C. (2004): Interaction of olive oil phenol antioxidant components with low-density lipoprotein. *Biol Res* 37 247-52.
- [389] COVAS, M. I., DE LA TORRE, K., FARRE-ALBALADEJO, M., KAIKKONEN, J., FITO, M., LOPEZ-SABATER, C., PUJADAS-BASTARDES, M. A., JOGLAR, J., WEINBRENNER, T., LAMUELA-RAVENTOS, R. M. & DE LA TORRE, R. (2006): Postprandial LDL phenolic content and LDL oxidation are modulated by olive oil phenolic compounds in humans. *Free Radic Biol Med* 40 608-16.
- [390] FUKUMOTO, M., SHOJI, T., EMOTO, M., KAWAGISHI, T., OKUNO, Y. & NISHIZAWA, Y. (2000): Antibodies against oxidized LDL and carotid artery intima-media thickness in a healthy population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20 703-7.
- [391] ROSE, N. & AFANASYEVA, M. (2003): Autoimmunity: busting the atherosclerotic plaque. *Nat Med* 9 641-2.
- [392] SHOJI, T., NISHIZAWA, Y., FUKUMOTO, M., SHIMAMURA, K., KIMURA, J., KANDA, H., EMOTO, M., KAWAGISHI, T. & MORII, H. (2000): Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. *Atherosclerosis* 148 171-7.
- [393] SHAW, P. X., HORKKO, S., CHANG, M. K., CURTISS, L. K., PALINSKI, W., SILVERMAN, G. J. & WITZTUM, J. L. (2000): Natural antibodies with the T15 idiotype may act in atherosclerosis, apoptotic clearance, and protective immunity. *J Clin Invest* 105 1731-40.
- [394] BINDER, C. J., HORKKO, S., DEWAN, A., CHANG, M. K., KIEU, E. P., GOODYEAR, C. S., SHAW, P. X., PALINSKI, W., WITZTUM, J. L. & SILVERMAN, G. J. (2003): Pneumococcal vaccination decreases

- atherosclerotic lesion formation: molecular mimicry between *Streptococcus pneumoniae* and oxidized LDL. *Nat Med* 9 736-43.
- [395] MATSUURA, E., KOBAYASHI, K., KASAHARA, J., YASUDA, T., MAKINO, H., KOIKE, T. & SHOENFELD, Y. (2002): Anti-beta 2-glycoprotein I autoantibodies and atherosclerosis. *Int Rev Immunol* 21 51-66.
- [396] CHERKI, M., DEROUICHE, A., DRISSI, A., EL MESSAL, M., BAMOU, Y., IDRISSE-OUADGHIRI, A., KHALIL, A. & ADLOUNI, A. (2005): Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 15 352-60.
- [397] AESCHBACH, R., LOLIGER, J., SCOTT, B. C., MURCIA, A., BUTLER, J., HALLIWELL, B. & ARUOMA, O. I. (1994): Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chem Toxicol* 32 31-6.
- [398] WILSON, R., LYALL, K., SMYTH, L., FERNIE, C. E. & RIEMERSMA, R. A. (2002): Dietary hydroxy fatty acids are absorbed in humans: implications for the measurement of 'oxidative stress' in vivo. *Free Radic Biol Med* 32 162-8.
- [399] JIRA, W., SPITELLER, G. & SCHRAMM, A. (1996): Increase in hydroxy fatty acids in human low density lipoproteins with age. *Chem Phys Lipids* 84 165-73.
- [400] RICHELLE, M., TURINI, M. E., GUIDOUX, R., TAVAZZI, I., METAIRON, S. & FAY, L. B. (1999): Urinary isoprostane excretion is not confounded by the lipid content of the diet. *FEBS Lett* 459 259-62.
- [401] GOPAUL, N. K., HALLIWELL, B. & ANGGARD, E. E. (2000): Measurement of plasma F2-isoprostanes as an index of lipid peroxidation does not appear to be confounded by diet. *Free Radic Res* 33 115-27.
- [402] HELMERSSON, J. & BASU, S. (2001): F(2)-isoprostane and prostaglandin F(2 alpha)metabolite excretion rate and day to day variation in healthy humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 65 99-102.
- [403] KANABROCKI, E. L., MURRAY, D., HERMIDA, R. C., SCOTT, G. S., BREMNER, W. F., RYAN, M. D., AYALA, D. E., THIRD, J. L., SHIRAZI, P., NEMCHAUSKY, B. A. & HOOPER, D. C. (2002): Circadian variation in oxidative stress markers in healthy and type II diabetic men. *Chronobiol Int* 19 423-39.
- [404] VISIOLI, F., CARUSO, D., GRANDE, S., BOSISIO, R., VILLA, M., GALLI, G., SIRTORI, C. & GALLI, C. (2004): Virgin Olive Oil Study (VOLOS): vasoprotective potential of extra virgin olive oil in mildly dyslipidemic patients. *Eur J Nutr* 1-7.
- [405] LEGER, C. L., CARBONNEAU, M. A., MICHEL, F., MAS, E., MONNIER, L., CRISTOL, J. P. & DESCOMPS, B. (2005): A thromboxane effect of a hydroxytyrosol-rich olive oil wastewater extract in patients with uncomplicated type I diabetes. *Eur J Clin Nutr* 59 727-30.
- [406] MATHUR, S., DEVARAJ, S., GRUNDY, S. M. & JIALAL, I. (2002): Cocoa products decrease low density lipoprotein oxidative susceptibility but do not affect biomarkers of inflammation in humans. *J Nutr* 132 3663-7.
- [407] HODGSON, J. M., CROFT, K. D., MORI, T. A., BURKE, V., BEILIN, L. J. & PUDDEY, I. B. (2002): Regular ingestion of tea does not inhibit in vivo lipid peroxidation in humans. *J Nutr* 132 55-8.
- [408] LIU, T., STERN, A., ROBERTS, L. J. & MORROW, J. D. (1999): The isoprostanes: novel prostaglandin-like products of the free radical-catalyzed peroxidation of arachidonic acid. *J Biomed Sci* 6 226-35.
- [409] ASHFAQ, S., ABRAMSON, J. L., JONES, D. P., RHODES, S. D., WEINTRAUB, W. S., HOOPER, W. C., VACCARINO, V., HARRISON, D. G. & QUYYUMI, A. A. (2006): The relationship between plasma

- levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. *J Am Coll Cardiol* 47 1005-11.
- [410] SORENSON, R. C., BISGAIER, C. L., AVIRAM, M., HSU, C., BILLECKE, S. & LA DU, B. N. (1999): Human serum Paraoxonase/Arylesterase's retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids : apolipoprotein A-I stabilizes activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19 2214-25.
- [411] GETZ, G. S. & REARDON, C. A. (2004): Paraoxonase, a cardioprotective enzyme: continuing issues. *Curr Opin Lipidol* 15 261-7.
- [412] MERTENS, A. & HOLVOET, P. (2001): Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *Faseb J* 15 2073-84.
- [413] MACKNESS, M. I., MACKNESS, B., DURRINGTON, P. N., CONNELLY, P. W. & HEGELE, R. A. (1996): Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol* 7 69-76.
- [414] AVIRAM, M., ROSENBLAT, M., BILLECKE, S., EROGUL, J., SORENSON, R., BISGAIER, C. L., NEWTON, R. S. & LA DU, B. (1999): Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radic Biol Med* 26 892-904.
- [415] AVIRAM, M., HARDAK, E., VAYA, J., MAHMOOD, S., MILO, S., HOFFMAN, A., BILICKE, S., DRAGANOV, D. & ROSENBLAT, M. (2000): Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions: PON1 esterase and peroxidase-like activities. *Circulation* 101 2510-7.
- [416] AVIRAM, M., ROSENBLAT, M., BISGAIER, C. L., NEWTON, R. S., PRIMO-PARMO, S. L. & LA DU, B. N. (1998): Paraoxonase inhibits high-density lipoprotein oxidation and preserves its functions. A possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest* 101 1581-90.
- [417] SHIH, D. M., GU, L., XIA, Y. R., NAVAB, M., LI, W. F., HAMA, S., CASTELLANI, L. W., FURLONG, C. E., COSTA, L. G., FOGELMAN, A. M. & LUSIS, A. J. (1998): Mice lacking serum paraoxonase are susceptible to organophosphate toxicity and atherosclerosis. *Nature* 394 284-7.
- [418] ODA, M. N., BIELICKI, J. K., HO, T. T., BERGER, T., RUBIN, E. M. & FORTE, T. M. (2002): Paraoxonase 1 overexpression in mice and its effect on high-density lipoproteins. *Biochem Biophys Res Commun* 290 921-7.
- [419] NGUYEN, S. D. & SOK, D. E. (2003): Beneficial effect of oleoylated lipids on paraoxonase 1: protection against oxidative inactivation and stabilization. *Biochem J* 375 275-85.
- [420] KUDCHODKAR, B. J., LACKO, A. G., DORY, L. & FUNGWE, T. V. (2000): Dietary fat modulates serum paraoxonase 1 activity in rats. *J Nutr* 130 2427-33.
- [421] NICOLosi, R. J., WILSON, T. A., ROGERS, E. J. & KRITCHEVSKY, D. (1998): Effects of specific fatty acids (8:0, 14:0, cis-18:1, trans-18:1) on plasma lipoproteins, early atherogenic potential, and LDL oxidative properties in the hamster. *J Lipid Res* 39 1972-80.
- [422] NICOLosi, R. J., WILSON, T. A., HANDELMAN, G., FOXALL, T., KEANEY, J. F. & VITA, J. A. (2002): Decreased aortic early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters fed oleic acid-rich TriSun oil compared to linoleic acid-rich sunflower oil. *J Nutr Biochem* 13 392-402.
- [423] BLUM, S., AVIRAM, M., BEN-AMOTZ, A. & LEVY, Y. (2006): Effect of a Mediterranean meal on postprandial carotenoids, paraoxonase activity and C-reactive protein levels. *Ann Nutr Metab* 50 20-4.
- [424] TOMAS, M., SENTI, M., ELOSUA, R., VILA, J., SALA, J., MASIA, R. & MARRUGAT, J. (2001): Interaction between the Gln-Arg 192 variants of the paraoxonase gene and oleic acid intake as a determinant of high-density lipoprotein cholesterol and paraoxonase activity. *Eur J Pharmacol* 432 121-8.

- [425] NIETO, N., FERNANDEZ, M. I., TORRES, M. I., RIOS, A., SUAREZ, M. D. & GIL, A. (1998): Dietary monounsaturated n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids affect cellular antioxidant defense system in rats with experimental ulcerative colitis induced by trinitrobenzene sulfonic acid. *Dig Dis Sci* 43 2676-87.
- [426] EL SEWEIDY, M. M., EL-SWEFY, S. E., ABDALLAH, F. R. & HASHEM, R. M. (2005): Dietary fatty acid unsaturation levels, lipoprotein oxidation and circulating chemokine in experimentally induced atherosclerotic rats. *J Pharm Pharmacol* 57 1467-74.
- [427] FAINE, L. A., DINIZ, Y. S., GALHARDI, C. M., RODRIGUES, H. G., BURNEIKO, R. C., SANTANA, L. S., CICOGNA, A. C. & NOVELLI, E. L. (2004): Synergistic action of olive oil supplementation and dietary restriction on serum lipids and cardiac antioxidant defences. *Can J Physiol Pharmacol* 82 969-75.
- [428] STACHOWSKA, E., WESOŁOWSKA, T., OLSZEWSKA, M., SAFRANOW, K., MILLO, B., DOMANSKI, L., JAKUBOWSKA, K., CIECHANOWSKI, K. & CHLUBEK, D. (2005): Elements of Mediterranean diet improve oxidative status in blood of kidney graft recipients. *Br J Nutr* 93 345-52.
- [429] ALARCON DE LA LASTRA, C., BARRANCO, M. D., MARTIN, M. J., HERRERIAS, J. & MOTILVA, V. (2002): Extra-virgin olive oil-enriched diets reduce indomethacin-induced gastric oxidative damage in rats. *Dig Dis Sci* 47 2783-90.
- [430] MIRET, S., SAIZ, M. P. & MITJAVILA, M. T. (2003): Effects of fish oil- and olive oil-rich diets on iron metabolism and oxidative stress in the rat. *Br J Nutr* 89 11-8.
- [431] ERGUN, S., YONTEM, M., YERLIKAYA, A., OZATA, A., UYSAL, K. & KURT, H. (2005): Influence of dietary oils on liver and blood lipid peroxidation. *Saudi Med J* 26 442-6.
- [432] ALLARD, J. P., KURIAN, R., AGHDASSI, E., MUGGLI, R. & ROYALL, D. (1997): Lipid peroxidation during n-3 fatty acid and vitamin E supplementation in humans. *Lipids* 32 535-41.
- [433] CHO, S. H. & CHOI, Y. S. (1994): Lipid peroxidation and antioxidant status is affected by different vitamin E levels when feeding fish oil. *Lipids* 29 47-52.
- [434] FUJII, J. & TANIGUCHI, N. (1999): Down regulation of superoxide dismutases and glutathione peroxidase by reactive oxygen and nitrogen species. *Free Radic Res* 31 301-8.
- [435] NAVARRO, J., OBRADOR, E., PELLICER, J. A., ASENI, M., VINA, J. & ESTRELA, J. M. (1997): Blood glutathione as an index of radiation-induced oxidative stress in mice and humans. *Free Radic Biol Med* 22 1203-9.
- [436] TOBOREK, M., LEE, Y. W., GARRIDO, R., KAISER, S. & HENNIG, B. (2002): Unsaturated fatty acids selectively induce an inflammatory environment in human endothelial cells. *Am J Clin Nutr* 75 119-25.
- [437] BRANDSCH, C., RINGSEIS, R. & EDER, K. (2002): High dietary iron concentrations enhance the formation of cholesterol oxidation products in the liver of adult rats fed salmon oil with minimal effects on antioxidant status. *J Nutr* 132 2263-9.
- [438] JENKINSON, A., FRANKLIN, M. F., WAHLE, K. & DUTHIE, G. G. (1999): Dietary intakes of polyunsaturated fatty acids and indices of oxidative stress in human volunteers. *Eur J Clin Nutr* 53 523-8.
- [439] CROSBY, A. J., WAHLE, K. W., DUTHIE, G. G. & MORRICE, P. C. (1996): Regulation of glutathione peroxidase (GSHPx) activity in human vascular endothelial cells by fatty acids. *Biochem Soc Trans* 24 176S.
- [440] MASSARO, M. & DE CATERINA, R. (2002): Vasculoprotective effects of oleic acid: epidemiological background and direct vascular antiatherogenic properties. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 12 42-51.

- [441] MARUI, N., OFFERMANN, M. K., SWERLICK, R., KUNSCH, C., ROSEN, C. A., AHMAD, M., ALEXANDER, R. W. & MEDFORD, R. M. (1993): Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) gene transcription and expression are regulated through an antioxidant-sensitive mechanism in human vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 92 1866-74.
- [442] THANOS, D. & MANIATIS, T. (1995): NF-kappa B: a lesson in family values. *Cell* 80 529-32.
- [443] FLOHE, L., BRIGELIUS-FLOHE, R., SALIOU, C., TRABER, M. G. & PACKER, L. (1997): Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Radic Biol Med* 22 1115-26.
- [444] FERRETTI, G., BACCHETTI, T., MARCHIONNI, C., CALDARELLI, L. & CURATOLA, G. (2001): Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. *Acta Diabetol* 38 163-9.
- [445] FUHRMAN, B. & AVIRAM, M. (2002): Preservation of paraoxonase activity by wine flavonoids: possible role in protection of LDL from lipid peroxidation. *Ann N Y Acad Sci* 957 321-4.
- [446] JARVIK, G. P., TSAI, N. T., MCKINSTRY, L. A., WANI, R., BROPHY, V. H., RICHTER, R. J., SCHELLENBERG, G. D., HEAGERTY, P. J., HATSUKAMI, T. S. & FURLONG, C. E. (2002): Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22 1329-33.
- [447] JEON, S. M., LEE, M. K., PARK, Y. B., PARK, H. M. & CHOI, M. S. (2004): Polygonatum rhizoma affects antioxidant defense systems without changing mRNA expression in diet-induced hypercholesterolemic rabbits. *J Med Food* 7 358-65.
- [448] SARANDOL, E., TAS, S., DIRICAN, M. & SERDAR, Z. (2005): Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism: effect of vitamin E supplementation. *Cell Biochem Funct* 23 1-8.
- [449] GOUEDARD, C., BAROUKI, R. & MOREL, Y. (2004): Dietary polyphenols increase paraoxonase 1 gene expression by an aryl hydrocarbon receptor-dependent mechanism. *Mol Cell Biol* 24 5209-22.
- [450] GOUEDARD, C., BAROUKI, R. & MOREL, Y. (2004): Induction of the paraoxonase-1 gene expression by resveratrol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 24 2378-83.
- [451] OCHOA, J. J., HUERTAS, J. R., QUILES, J. L., OLVERA, A. B. & MATAIX, J. (1999): Relative importance of the saponified and unsaponified fractions of dietary olive oil on mitochondrial lipid peroxidation in rabbit heart. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 9 284-8.
- [452] ASAUMI, H., WATANABE, S., TAGUCHI, M., TASHIRO, M., NAGASHIO, Y., NOMIYAMA, Y., NAKAMURA, H. & OTSUKI, M. (2006): Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate inhibits ethanol-induced activation of pancreatic stellate cells. *Eur J Clin Invest* 36 113-22.
- [453] LI, Y., CAO, Z. & ZHU, H. (2006): Upregulation of endogenous antioxidants and phase 2 enzymes by the red wine polyphenol, resveratrol in cultured aortic smooth muscle cells leads to cytoprotection against oxidative and electrophilic stress. *Pharmacol Res* 53 6-15.
- [454] ALIA, M., MATEOS, R., RAMOS, S., LECUMBERRI, E., BRAVO, L. & GOYA, L. (2006): Influence of quercetin and rutin on growth and antioxidant defense system of a human hepatoma cell line (HepG2). *Eur J Nutr* 45 19-28.
- [455] LU, Y., ZHAO, W. Z., CHANG, Z., CHEN, W. X. & LI, L. (2004): Procyanidins from grape seeds protect against phorbol ester-induced oxidative cellular and genotoxic damage. *Acta Pharmacol Sin* 25 1083-9.
- [456] TIRKEY, N., PILKHWAL, S., KUHAD, A. & CHOPRA, K. (2005): Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol* 5 2.

- [457] CHOUDHARY, A. & VERMA, R. J. (2005): Ameliorative effects of black tea extract on aflatoxin-induced lipid peroxidation in the liver of mice. *Food Chem Toxicol* 43 99-104.
- [458] YEH, C. T. & YEN, G. C. (2006): Induction of hepatic antioxidant enzymes by phenolic acids in rats is accompanied by increased levels of multidrug resistance-associated protein 3 mRNA expression. *J Nutr* 136 11-5.
- [459] BALASUBASHINI, M. S., RUKKUMANI, R., VISWANATHAN, P. & MENON, V. P. (2004): Ferulic acid alleviates lipid peroxidation in diabetic rats. *Phytother Res* 18 310-4.
- [460] NIELSEN, S. E., YOUNG, J. F., DANESHVAR, B., LAURIDSEN, S. T., KNUTHSEN, P., SANDSTROM, B. & DRAGSTED, L. O. (1999): Effect of parsley (*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. *Br J Nutr* 81 447-55.
- [461] HASHIMOTO, T., IBI, M., MATSUNO, K., NAKASHIMA, S., TANIGAWA, T., YOSHIKAWA, T. & YABE-NISHIMURA, C. (2004): An endogenous metabolite of dopamine, 3,4-dihydroxyphenylethanol, acts as a unique cytoprotective agent against oxidative stress-induced injury. *Free Radic Biol Med* 36 555-64.
- [462] OCHOA-HERRERA, J. J., HUERTAS, J. R., QUILES, J. L. & MATAIX, J. (2001): Dietary oils high in oleic acid, but with different non-glyceride contents, have different effects on lipid profiles and peroxidation in rabbit hepatic mitochondria. *J Nutr Biochem* 12 357-364.
- [463] COVAS, M. I., KONSTANTINIDOU, V., MYSYTAKI, E., FITO, M., WEINBRENNER, T., DE LA TORRE, R., FARRE-ALBADALEJO, M. & LAMUELA-RAVENTOS, R. (2003): Postprandial effects of wine consumption on lipids and oxidative stress biomarkers. *Drugs Exp Clin Res* 29 217-23.
- [464] CASALINO, E., CALZARETTI, G., SBLANO, C., LANDRISCINA, V., FELICE TECCE, M. & LANDRISCINA, C. (2002): Antioxidant effect of hydroxytyrosol (DPE) and Mn²⁺ in liver of cadmium-intoxicated rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 133 625-32.
- [465] MOLINA, M. F., SANCHEZ-REUS, I., IGLESIAS, I. & BENEDI, J. (2003): Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects against ethanol-induced oxidative stress in mouse liver. *Biol Pharm Bull* 26 1398-402.
- [466] MYHRSTAD, M. C., CARLSEN, H., NORDSTROM, O., BLOMHOFF, R. & MOSKAUG, J. O. (2002): Flavonoids increase the intracellular glutathione level by transactivation of the gamma-glutamylcysteine synthetase catalytical subunit promoter. *Free Radic Biol Med* 32 386-93.
- [467] ROSENBLAT, M., VOLKOVA, N., COLEMAN, R. & AVIRAM, M. (2006): Pomegranate byproduct administration to apolipoprotein e-deficient mice attenuates atherosclerosis development as a result of decreased macrophage oxidative stress and reduced cellular uptake of oxidized low-density lipoprotein. *J Agric Food Chem* 54 1928-35.
- [468] LUND, E. (2002): Olive oil phenolics: effects of DNA-oxidation and redox enzyme mRNA in prostate cells - invited commentary. *British Journal of Nutrition* 88 discussion 223-224.
- [469] MASELLA, R., CANTAFORA, A., MODESTI, D., CARDILLI, A., GENNARO, L., BOCCA, A. & CONI, E. (1999): Antioxidant activity of 3,4-DHPEA-EA and protocatechuic acid: a comparative assessment with other olive oil biophenols. *Redox Rep* 4 113-21.
- [470] RICE-EVANS, C. A., MILLER, N. J. & PAGANGA, G. (1996): Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic Biol Med* 20 933-56.
- [471] MANNA, C., DELLA RAGIONE, F., CUCCIOLLA, V., BORRIELLO, A., D'ANGELO, S., GALLETI, P. & ZAPPIA, V. (1999): Biological effects of hydroxytyrosol, a polyphenol from olive oil endowed with antioxidant activity. *Adv Exp Med Biol* 472 115-30.

-
- [472] YAMAMOTO, N., MOON, J. H., TSUSHIDA, T., NAGAO, A. & TERAOKA, J. (1999): Inhibitory effect of quercetin metabolites and their related derivatives on copper ion-induced lipid peroxidation in human low-density lipoprotein. *Arch Biochem Biophys* 372 347-54.
- [473] DAY, A. J., BAO, Y., MORGAN, M. R. & WILLIAMSON, G. (2000): Conjugation position of quercetin glucuronides and effect on biological activity. *Free Radic Biol Med* 29 1234-43.
- [474] BERTELLI, A. A., MIGLIORI, M., PANICHI, V., LONGONI, B., ORIGLIA, N., FERRETTI, A., CUTTANO, M. G. & GIOVANNINI, L. (2002): Oxidative stress and inflammatory reaction modulation by white wine. *Ann N Y Acad Sci* 957 295-301.
- [475] MILES, E. A., ZOUBOULI, P. & CALDER, P. C. (2005): Differential anti-inflammatory effects of phenolic compounds from extra virgin olive oil identified in human whole blood cultures. *Nutrition* 21 389-94.
- [476] HERRERA, M. D., PEREZ-GUERRERO, C., MARHUENDA, E. & RUIZ-GUTIERREZ, V. (2001): Effects of dietary oleic-rich oils (virgin olive and high-oleic-acid sunflower) on vascular reactivity in Wistar-Kyoto and spontaneously hypertensive rats. *Br J Nutr* 86 349-57.
- [477] PEREZ-JIMENEZ, F. (2005): International conference on the healthy effect of virgin olive oil. *Eur J Clin Invest* 35 421-4.
- [478] Food and Drug Administration, Health Claim Petition dated August 28, 2003: Monounsaturated Fatty Acids from Olive Oil and Coronary Heart Disease (Docket No 2003Q-0559). www.fda.gov/bbs/topics/news/2004/NEW01129.html.

11 ANHANG

11.1 Eurolive Projektpartner

Partner 1: Institut Municipal d'Investigació Mèdica (IMIM), Barcelona, Spanien
Dr. M.I Covas (Projektkoordinator)

Partner 2: Department of Clinical Pharmacology, Rigshospitalet Copenhagen University
Hospital, Kopenhagen, Dänemark
Prof. Henrik E. Poulsen

Partner 3: Research Institute of Public Health, University of Kuopio, Kuopio, Finnland
Prof. Jukka Salonen, Dr. Kriistina Nyssönen

Partner 4: Centro per lo Studio dell'Arteriosclerosi e delle Malattie Dismetaboliche
"GC Descovich", University of Bologna, Bologna, Italien
Prof. Antonio Gaddi

Partner 5: Deutsches Institut für Ernährungsforschung (DIfE), Nachwuchsgruppe
Ballaststoffe und Metabolisches Syndrom, Bergholz-Rehbrücke, Deutschland
Prof. Hans-Joachim F. Zunft

Partner 6: Institut für Transfusionsmedizin, Charité Campus Mitte,
Humboldt Universität Berlin, Berlin, Deutschland
Prof. Holger Kieseewetter

Partner 7: Nutrition and Bromatology Department, Farmacy Faculty, University of Barcelona,
Barcelona, Spanien
Prof. Carmen de la Torre

Partner 8: Oy Jurilab Ltd, Kuopio, Finnland
Dr. Jari Kaikonen

Partner 9: KEPKA, Consumers Protection Centre, Thessaloniki, Griechenland
Mr. Ioannis Sidiropoulos

11.2 Rekrutierungsmaterialien

Aushang



Deutsches Institut für Ernährungsforschung
Abteilung Interventionsstudien



!! Studienteilnehmer gesucht !!

Im Rahmen eines Forschungsprojektes der Europäischen Union sucht das Deutsche Institut für Ernährungsforschung (DIfE) für die Durchführung einer Ernährungsstudie:

Teilnehmer: **männliche Nichtraucher im Alter zwischen 20 und 60 Jahren**
im Zeitraum: **Januar bis April 2003**

Das Ziel der Studie ist es, die Wirkung von verschiedenen Olivenölen als schützenden Faktor gegenüber Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu untersuchen.

Interessenten werden gebeten, sich Montag bis Freitag von 8.30 Uhr bis 16.00 Uhr unter Tel. 033200 / 88 – oder in der Abteilung Interventionsstudien zu melden.

Für die Teilnahme wird eine Aufwandsentschädigung gezahlt.

Pressemitteilung

Teilnehmer für eine Studie der Europäischen Union (EU) am Deutschen Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke gesucht

Im Rahmen eines Forschungsprojektes der Europäischen Union sucht das Deutsche Institut für Ernährungsforschung (DIfE) für die Durchführung einer Ernährungsstudie von Januar bis April 2003 interessierte männliche Nichtraucher im Alter zwischen 20 und 60 Jahren.

Das Ziel der Studie ist es, den gesundheitlichen Wert von Olivenöl näher zu untersuchen. Olivenöl und seine Inhaltsstoffe werden u.a. für die geringe Häufigkeit von Herz-Kreislauf-Erkrankungen im Mittelmeerraum verantwortlich gemacht. Deshalb werden den Studienteilnehmern verschiedene Olivenöle angeboten, um mögliche schützende Wirkungen zu beobachten.

Interessenten werden gebeten, sich Montag bis Freitag von 8.30 Uhr bis 16.30 Uhr unter der Tel. Nr. 033200 / 88 – oder in der Abteilung Interventionsstudien zu melden. Für die Teilnahme wird eine Aufwandsentschädigung gezahlt.

Anschreiben an Probanden aus der internen Probandendatei

«Vorname» «Name»
«Adresse»

Bergholz-Rehbrücke, den «Datum»

«PLZ», «Ort»

Sehr geehrter Herr «Vorname» «Name»,

Ihre Anschrift entnahmen wir unserer Probandendatei, in der die Adressen ehemaliger Studienteilnehmer der Abteilung Interventionsstudien des Deutschen Institutes für Ernährungsforschung aufgelistet sind, die sich für die Teilnahme an weiteren Projekten interessieren.

Wir würden Ihnen gern die EUROLIVE-Studie vorstellen, die von unserer Abteilung zu Beginn des Jahres 2003 begonnen wird. EUROLIVE ist ein Projekt, an dem neben unserem Institut Forschungseinrichtungen aus verschiedenen europäischen Ländern beteiligt sind. Das Ziel der Studie ist es, den gesundheitlichen Wert von Olivenöl näher zu untersuchen. Olivenöl und seine Inhaltsstoffe werden u.a. für die geringe Häufigkeit von Herz-Kreislauf-Erkrankungen im Mittelmeerraum verantwortlich gemacht. Den Studienteilnehmern werden verschiedene Olivenöle angeboten, um mögliche schützende Wirkungen zu beobachten.

Für diese Studie suchen wir männliche Nichtraucher im Alter zwischen 20 und 60 Jahren. Wir möchten deshalb in den nächsten Tagen telefonisch mit Ihnen Kontakt aufnehmen. Sollten wir Ihr Interesse zur Studienteilnahme geweckt haben, lassen wir Ihnen gern weitere Informationen über die Studie sowie einen Fragebogen zukommen. Für eventuelle Fragen stehen wir Ihnen unter den oben angegebenen Telefonnummern gern zur Verfügung.

Über Ihre Mitarbeit würden wir uns sehr freuen.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. H.-J. F. Zunft
Abteilungsleiter

Dipl. Oec. troph. A. Machowetz

11.3 Informations- und Studienmaterialien

Informationsblatt

Die EUROLIVE Studie: Der Verzehr von Olivenöl und seine Effekte auf die oxidative Schädigung in der europäischen Bevölkerung.



In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die mediterrane Ernährungsweise eine schützende Wirkung auf Erkrankungen ausübt, die mit oxidativem Stress in Verbindung gebracht werden. Oxidative Vorgänge sind Reaktionen im Organismus, die für das normale Stoffwechselgeschehen notwendig sind. Durch Belastungen, ungesunde Lebensweise und unzureichende Ernährung können diese Vorgänge aber auch negative Effekte auslösen mit Spätfolgen wie u.a. Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Die geringere Erkrankungsrate an Herz-Kreislauf-Erkrankungen in den mediterranen Ländern wird auf eine unterschiedliche Ernährungsweise zurückgeführt. So kennzeichnet sich die mediterrane Kost durch einen hohen Verzehr an Obst und Gemüse sowie an Olivenöl. Der Fettbedarf wird in diesen Ländern fast ausschließlich über Olivenöl gedeckt. Dabei kann das Olivenöl in kaltgepresstes (hoher Gehalt an phenolischen Verbindungen), gemischtes (mittlerer Gehalt an phenolischen Verbindungen) und raffiniertes Olivenöl (frei von phenolischen Verbindungen) unterschieden werden. Das Ziel der EUROLIVE Studie ist es, die Wirkung von kaltgepresstem, einfachem und raffiniertem Olivenöl als schützenden Faktor gegenüber Herz-Kreislauf-Erkrankungen zu untersuchen.

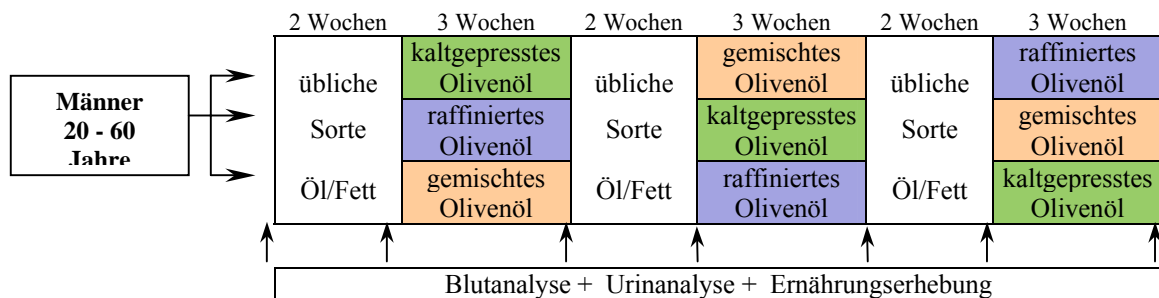
Erfülle ich die Anforderungen?

Vor Studienbeginn ist es notwendig, Ihre Blut- und Urinwerte zu ermitteln. Da unter anderem der Cholesterin- und Blutfettspiegel überprüft werden, bitten wir Sie an diesem Tag nüchtern zu erscheinen. Nach der Auswertung der Blut- und Urinwerte stellt sich heraus, ob Sie als Proband für unsere Studie geeignet sind. Sie werden von uns darüber schriftlich informiert. Wenn Sie bei entsprechender Eignung auch weiterhin mitwirken wollen, werden Sie zu einem Informationsgespräch eingeladen.

Wie ist der Studienablauf?

Das Studienprotokoll sieht die tägliche Einnahme von 25 ml kaltgepresstem, einfachem oder raffiniertem Olivenöl jeweils über 3 Wochen vor, welches vom Institut bereitgestellt wird. Das Olivenöl soll roh verzehrt werden und dabei die gleiche Menge des gewöhnlich konsumierten Fettes ersetzen. Es kann den üblichen Mahlzeiten zugesetzt werden. In einem vorherigen Informationsgespräch werden Ihnen verschiedene Rezeptvorschläge unterbreitet, wie Sie die 25 ml Olivenöl in Ihren täglichen Speiseplan integrieren können.

Dabei werden Sie einen der folgenden Studienabläufe durchlaufen:



Zu Studienbeginn werden persönliche Daten erhoben und eine kurze Befragung nach Ihren körperlichen Aktivitäten durchgeführt. Im Studienverlauf erfolgen wiederholt Blutabnahmen sowie Messungen des Gewichts, der Größe, des Taille/Hüfte-Verhältnisses und des Blutdrucks. Vor Beginn der Studie sowie zum Anfang und Ende jeder Interventionsphase werden Sie gebeten, über einen Zeitraum von 24 Stunden Urin zu sammeln. Die entsprechenden Urinbehälter werden Ihnen vorher ausgehändigt. Zusätzlich ist zu Beginn und zum Ende jeder Interventionsphase ein 3-Tage-Ernährungsprotokoll zu führen, um Ihre Verzehrsgewohnheiten zu bestimmen. Außerdem ist einmal der Alkoholkonsum über eine Woche zu erfassen.

Habe ich Vor- oder Nachteile durch meine Teilnahme an der Studie?

Durch die Teilnahme an der Studie erhalten Sie Kenntnis über die Cholesterin- und Fettwerte in Ihrem Blut. Die Studie birgt keinerlei Gefahren für Ihre Gesundheit. Alle angebotenen Olivenöle sind übliche Lebensmittel, die sowohl in Deutschland als auch vermehrt in den mitteleuropäischen Ländern verzehrt werden.

Die Blutentnahme ist ein Routinevorgang, der durch fachkundiges, erfahrenes Personal durchgeführt wird. Es wird Ihnen nur so viel Blut abgenommen wie nötig ist, um eine komplette Laboranalyse durchführen zu können. Am Vorabend sollten Sie lediglich keine großen Mengen Alkohol zu sich nehmen.

Haben Sie bis zum Abschluss aller Untersuchungen an der Studie teilgenommen, so erhalten Sie eine Aufwandsentschädigung in Höhe von 250,00 €.

Kann ich meine Teilnahme an der Studie noch absagen, nachdem ich die Zustimmungserklärung unterzeichnet habe?

Sie können jederzeit Ihre Teilnahme an der Studie ohne Angabe von Gründen beenden. Die gegebene Zustimmungserklärung ist in keiner Weise bindend. Sie sagt lediglich aus, dass Sie das Informationsblatt gelesen haben, an der Studie teilnehmen wollen und bereit sind, Blut- und Urinproben abzugeben. Bevor und auch während der Studie können Sie an die Untersucher jederzeit Fragen stellen, die Sie im Rahmen der Untersuchung beschäftigen.

Wie erfolgt der Datenschutz ?

Die Ergebnisse der Studie werden streng vertraulich behandelt. Sie erhalten eine Probanden-Nummer zu Beginn der Studie. Mit dieser Nummer werden die Blut- und Urinproben gekennzeichnet. Welcher Name zu welcher Nummer gehört, ist nur dem Studienleiter bekannt. Nach Abschluss aller Untersuchungen werden Ihr Name und Ihre Adresse in unserem Studienzentrum gelöscht. Die gewonnenen Informationen aus der Studie werden in wissenschaftlichen und medizinischen Zeitschriften veröffentlicht, dann aber nur anonymisiert in

Form von durchschnittlichen Gruppenwerten. Es werden keine Daten von Einzelpersonen veröffentlicht oder auf wissenschaftlichen Tagungen präsentiert.

Werden mir die Ergebnisse der Studie mitgeteilt?

Die Ergebnisse des ersten Blut- und Urintests zur Auswahl der Probanden werden von uns auf Anfrage zugeschickt. Für interessierte Probanden können nach der Auswertung der Studie die wichtigsten Studienergebnisse kurz und anschaulich zusammengestellt werden.

Wo befindet sich das Studienzentrum und wer sind meine Ansprechpartner?

Studienzentrum: Deutsches Institut für Ernährungsforschung
Abteilung Interventionsstudien
Arthur-Scheunert-Allee 114 - 116
14558 Bergholz-Rehbrücke

Ansprechpartner: Frau Anja Machowetz Tel.: 033200 / 88 -

Einverständniserklärung**EINVERSTÄNDNISERKLÄRUNG**

Ich,

Familiennamen		Vorname	Geb.-Datum
wohnhaft in			
Straße		Ort	PLZ
Telefon privat		Telefon dienstlich	

nehme als Proband freiwillig und auf eigene Verantwortung an Untersuchungen zum Forschungsthema:

„EUROLIVE - Der Verzehr von Olivenöl und seine Effekte auf die oxidative Schädigung in der europäischen Bevölkerung“

im Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke (DIfE) teil.

Ich erkläre mich bereit:

- in einem Zeitraum von 3 x 3 Wochen täglich 25 ml Olivenöl zu verzehren
- Blut- und Urinproben abzugeben und diese für weitere Untersuchungen bereitzustellen
- an 4 Terminen Verzehrprotokolle zu führen
- sowie Fragebögen auszufüllen

Über das Studienziel, den zeitlichen Ablauf der Studie sowie die im Rahmen der Studie vorzunehmenden Untersuchungen bin ich durch das DIfE mündlich und schriftlich unterrichtet worden. Ich habe die Informationen verstanden und meine Fragen sind mir zufriedenstellend beantwortet worden.

Ich verpflichte mich, das Studienteam über mögliche Allergien und Unverträglichkeiten sowie Erkrankungen im Verlauf der Studie zu informieren.

Meine Angaben und die Untersuchungsergebnisse werden nicht in Verbindung mit meinem Namen, sondern getrennt davon gespeichert. Die Namens- und Adressdatei wird unmittelbar nach Eingabe der letzten Erhebungs- oder Messdaten gelöscht. Die Datenbehandlung und -auswertung erfolgt gemäß den Bestimmungen des Brandenburgischen Datenschutzgesetzes.

Ich bin darüber informiert, dass ich mein Einverständnis zur Teilnahme jederzeit schriftlich oder mündlich ohne Angabe von Gründen widerrufen kann. Bei Widerruf werden mein Name und meine Adresse aus der geschützten Personendatei gelöscht, jedoch nicht die bisher erhobenen Daten. Ich nehme zur Kenntnis, dass mir aus der Verweigerung oder dem Widerruf meines Einverständnisses keinerlei Nachteile entstehen.

Bergholz-Rehbrücke, den.....

.....
Unterschrift des Teilnehmers

Übersicht Studienablauf (Auszug)

Woche 7

Checkliste	Montag 03.03.03	Dienstag 04.03.03	Mittwoch 05.03.03	Donnerstag 06.03.03	Freitag 07.03.03	Samstag 08.03.03	Sonntag 09.03.03
Olivenölverzehr	<i>Olivenöl 25 ml</i>	<i>Olivenöl 25 ml</i>	<i>kein Olivenöl</i>	<i>kein Olivenöl</i>	<i>kein Olivenöl</i>	<i>kein Olivenöl</i>	<i>kein Olivenöl</i>
Ernährungsprotokoll	erledigt <input type="checkbox"/>	erledigt <input type="checkbox"/>					
Aktivitätsprotokoll	erledigt <input type="checkbox"/>	erledigt <input type="checkbox"/>					
24-Stunden-Urin- Sammlung + Protokoll		erledigt <input type="checkbox"/>	erledigt <input type="checkbox"/>				
Blut- u. Urin-Abgabe, Blutdruckmessung, Anthropometrie			I / ENDE Termin:Uhr				
Befindlichkeit							
Beschwerden	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>
Unverträglichkeiten	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>
Neuerkrankungen	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>
<u>Wenn ja, welche?</u>
Medikamente	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>	ja <input type="radio"/> nein <input type="radio"/>
<u>Wenn ja, welche?</u>

11.4 Protokolle und Fragebögen

Telefoninterview

Datum : |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|

vorläufige Probandennummer: |_|_|_|

Name:

Vorname:

Adresse:

PLZ / Ort |_|_|_|_|_|

Telefon: |_|_|_|_|_|_|_| / |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

|_|_|_|_|_|_|_| / |_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

E-Mail:

Geburtsdatum: |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|

Alter: |_|_| Jahre

Nichtraucher: Ja Nein seit.....

Teilnahme von Jan 2003 – April 2003 möglich: Ja Nein

Plan öffentliche Verkehrsmittel zuschicken: Ja Nein

Infoblatt zugeschickt? Ja

Fragebogen zurückgeschickt? Ja Datum.....

Fragebogen Ein- und Ausschlusskriterien



Deutsches Institut für Ernährungsforschung
Abteilung Interventionsstudien



FRAGEBOGEN - EUROLIVE

Persönliche Angaben:

Name:..... Vorname:.....

Anschrift:.....

Tel:.....

Geburtsdatum:..... Größe:.....cm Gewicht:.....kg Alter:.....Jahre

Kreuzen Sie bitte das zutreffende Kästchen an!

1. Nehmen Sie Nahrungsergänzungsmittel oder Mineralstoff- bzw. Vitaminpräparate ein?

Ja Nein

Wenn ja: (Bitte geben Sie den genauen Namen des Präparates an.)

	Name des Herstellers	Verzehrmenge	Verzehrhäufigkeit
Beispiel			
Präparat:	CeTeBe	1 Tablette	täglich

Präparat:.....

Präparat:.....

Präparat:.....

Präparat:.....

- Art des/der Präparates/e:
- Vitamin A
 - Vitamin B
 - Vitamin E
 - Eisen
 - Calcium
 - Mineralkomplex
 - Vitaminkomplex
 - Antioxidantienkomplex (z.B. ACE)

Sonstiges.....

Falls nicht durch einen Arzt verordnet, wären Sie bereit im Falle einer Studienteilnahme auf die Einnahme dieser Mineralstoff- bzw. Vitaminpräparate während des gesamten Studienzeitraumes zu verzichten?

Ja Nein

2. Befolgen Sie momentan eine Diät zur Gewichtsreduktion oder eine andere Kostform (z.B. vegetarische Kost)?

Ja Nein

Wenn ja, bitte erläutern.....

3. Treiben Sie regelmäßig mehr als 3x in der Woche für mindestens 1 Stunde Sport?

Ja Nein

Wenn ja, welche Sportart.....

4. Hatten bzw. haben Sie folgende Erkrankungen?

a) chronische Erkrankungen

Magen-Darm-Erkrankungen Ja Nein
 (z.B. Zöliakie, Colitis Ulcerosa)

Herz-Kreislauf-Erkrankungen Ja Nein
 (z.B. Arteriosklerose, Herzschwäche)

Krebserkrankungen Ja Nein

Bluthochdruck (Hypertonie) Ja Nein

Erhöhte Blutfettwerte Ja Nein
 (z.B. Cholesterin)

Gicht, Hyperurikämie Ja Nein

Diabetes Ja Nein

Allergien Ja Nein

Wenn ja, welche.....

andere chronische Erkrankungen Ja Nein

Wenn ja, welche.....

b) akute Erkrankungen (bezieht sich auf das letzte halbe Jahr)

Zeitraum
 (Monat/Jahr - Monat/Jahr)

Erkältung Ja Nein

Trauma Ja Nein

andere akute Erkrankungen Ja Nein

Wenn ja, welche.....

5. Haben bzw. hatten Sie psychische Erkrankungen (z.B. Angstzustände, Depressionen, Psychosen)?

Ja Nein

6. Haben Sie sonstige Krankheiten, die hier nicht genannt wurden?

Ja Nein

Wenn ja, welche.....

7. Nehmen bzw. nahmen Sie im Verlauf der letzten Monate Medikamente zu sich?

Ja Nein

Wenn ja: (Bitte geben Sie den genauen Namen des Präparates an.)

	Name des Medikamentes	Wogegen	Zeitraum der Einnahme (Monat/Jahr - Monat /Jahr)
Beispiel:			
Medikament:	Beloc	Bluthochdruck	April 02 – Sept 02
Medikament:.....			
Medikament:.....			
Medikament:.....			
Medikament:.....			

8. Nehmen Sie regelmäßig Aspirin bzw. den Wirkstoff Acetylsalicylsäure ein?

Ja Nein

Falls nicht durch einen Arzt verordnet, wären Sie bereit im Falle einer Studententeilnahme auf die Einnahme während des gesamten Studienzeitraumes zu verzichten?

Ja Nein

9. Rauchen Sie?

Ja Nein

Wenn nein: Ich habe aufgehört zu rauchen und rauche
 seit(Monat/Jahr) nicht mehr

- Ich rauche nur gelegentlich bei bestimmten Anlässen (z.B. Feiern)
- Ich habe niemals geraucht

10. Trinken Sie alkoholische Getränke?

Ja Nein

Wenn ja, wie häufig haben Sie in den letzten 4 Wochen die folgenden alkoholischen Getränke konsumiert? Bitte geben Sie an, wie viele Gläser oder Flaschen Sie getrunken haben. Machen Sie Ihre Angaben entweder „**pro Tag**“ oder „**pro Woche**“ oder „**pro Monat**“

Getränkeart	Portionsgröße	Anzahl pro Zeiteinheit (nur <u>eine</u> Angabe pro Getränk)		
		pro Tag	pro Woche	pro Monat
Beispiel: Wein	Glas (0,2l)		3	
Bier / Hefeweizen	Flasche (0,5l)			
Bierschorle (z.B. Diesel, Alster)	Glas (0,2l)			
Wein	Glas (0,2l)			
Weinschorle	Glas (0,2l)			
Sekt / Schaumwein / Champagner	Glas (0,1l)			
Likör	Glas (2cl)			
Spirituosen* (z.B. Whisky, Rum, Brandwein)	Glas (2cl)			
andere alkoholische Getränke, welche:				
.....	Glas (0,2l)			
.....	Glas (0,2l)			

* bitte berücksichtigen Sie auch Spirituosen in Mixgetränken (z.B. Longdrinks, Cocktails)

11. Nehmen Sie gelegentlich andere Rauschmittel (z.B. Ecstasy, Designerdrogen) zu sich?

Ja Nein

Wenn ja, welche.....

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit !

Soziodemographischer Fragebogen

Probandennummer: _ _ _ _ / _ _ _	Datum: _ _ / _ _ / _ _
-----------------------------------	-------------------------

SOZIODEMOGRAPHISCHE DATEN	
1.	Geben Sie bitte Ihr Geburtsdatum an! ____/____/____ (Tag/Monat/Jahr)
2.	Welche Staatsangehörigkeit haben Sie? <input type="checkbox"/> deutsch <input type="checkbox"/> andere
3.	Welchen Familienstand haben Sie gegenwärtig? <input type="checkbox"/> ledig <input type="checkbox"/> verheiratet / Lebensgemeinschaft <input type="checkbox"/> verwitwet / geschieden <input type="checkbox"/> getrennt lebend
4.	Welchen Schulabschluss haben Sie? <i>(Wenn Sie mehrere Schulabschlüsse haben, nennen Sie <u>nur den höchsten!</u>)</i> <input type="checkbox"/> Abitur / Hochschulreife <input type="checkbox"/> Realschulabschluss (Mittlere Reife, 10. Klasse, vergleichbarer Abschluss) <input type="checkbox"/> Hauptschulabschluss / Volksschulabschluss (8. Klasse) <input type="checkbox"/> Schule beendet ohne Abschluss <input type="checkbox"/> noch keinen Abschluss
5.	Welchen beruflichen Ausbildungsabschluss haben Sie? <i>(Falls Sie mehrere Abschlüsse haben, nennen Sie <u>nur den höchsten!</u>)</i> <input type="checkbox"/> Lehre (beruflich-betriebliche Ausbildung) <input type="checkbox"/> Berufsfachschule, Handelsschule (beruflich-schulische Ausbildung) <input type="checkbox"/> Fachschule (z.B. Meister-, Technikerschule, Berufs- oder Fachakademie) <input type="checkbox"/> Fachhochschule, Ingenieurschule <input type="checkbox"/> Universität, Hochschule <input type="checkbox"/> noch in beruflicher Ausbildung (Auszubildender, Student) → weiter mit Frage 13 <input type="checkbox"/> keinen beruflichen Abschluss <input type="checkbox"/> anderer Ausbildungsabschluss → welcher ?.....
6.	Wie haben Sie von dieser Studie erfahren? <input type="checkbox"/> von einem Freund <input type="checkbox"/> aus der Zeitung <input type="checkbox"/> durch einen Aushang <input type="checkbox"/> aus dem Radio <input type="checkbox"/> aus einem Anschreiben <input type="checkbox"/> sonstiges.....

Familiäre Krankengeschichte

Probandennummer: __ __ __ / __ __	Datum: __ __ / __ __ / __ __
------------------------------------	-------------------------------

FAMILIÄRE KRANKENGESCHICHTE	
Sind in Ihrer Familie folgende Erkrankungen aufgetreten?	
<u>Diabetes:</u>	
Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/> → Verwandtschaftsgrad: Mutter <input type="checkbox"/> Vater <input type="checkbox"/>
	Großeltern <input type="checkbox"/> Onkel/Tante <input type="checkbox"/>
	Sohn <input type="checkbox"/> Tochter <input type="checkbox"/>
<u>Bluthochdruck:</u>	
Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/> → Verwandtschaftsgrad: Mutter <input type="checkbox"/> Vater <input type="checkbox"/>
	Großeltern <input type="checkbox"/> Onkel/Tante <input type="checkbox"/>
	Sohn <input type="checkbox"/> Tochter <input type="checkbox"/>
<u>Erhöhte Blufettwerte:</u>	
Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/> → Verwandtschaftsgrad: Mutter <input type="checkbox"/> Vater <input type="checkbox"/>
	Großeltern <input type="checkbox"/> Onkel/Tante <input type="checkbox"/>
	Sohn <input type="checkbox"/> Tochter <input type="checkbox"/>
<u>Koronare Herzerkrankungen:</u>	
Ja <input type="checkbox"/>	Nein <input type="checkbox"/> → Verwandtschaftsgrad: Mutter <input type="checkbox"/> Vater <input type="checkbox"/>
	Großeltern <input type="checkbox"/> Onkel/Tante <input type="checkbox"/>
	Sohn <input type="checkbox"/> Tochter <input type="checkbox"/>

Anamnese Fragebogen

Probandennummer: _ _ _ _ / _ _ _ _	Datum: _ _ / _ _ / _ _
-------------------------------------	-------------------------

1. Haben bzw. hatten Sie seit der letzten Blutabnahme folgende Erkrankungen?

		Zeitraum (Tag/Monat) - (Tag/Monat)
Magen-Darm-Erkrankungen	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	
<i>Wenn ja, welche:</i>	_____	___/___ - ___/___
	_____	___/___ - ___/___
Herz-Kreislauf-Erkrankungen	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	
<i>Wenn ja, welche:</i>	_____	___/___ - ___/___
	_____	___/___ - ___/___
Hyperlipidämie / Erhöhte Cholesterinwerte	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
Allergien	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
<i>Wenn ja, welche:</i>	_____	___/___ - ___/___
	_____	___/___ - ___/___
Andere chronische Erkrankungen	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	
<i>Wenn ja, welche:</i>	_____	___/___ - ___/___
	_____	___/___ - ___/___
Andere akute Erkrankungen	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	
<i>Wenn ja, welche:</i>	_____	___/___ - ___/___
	_____	___/___ - ___/___
Bluthochdruck	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
Erkältung	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
Fiebrige Erkrankungen	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
Trauma	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
Gicht, Hyperurikämie	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
Diabetes	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___
Psychische Erkrankungen	Ja <input type="checkbox"/> Nein <input type="checkbox"/>	___/___ - ___/___

2. Nehmen bzw. nahmen Sie seit der letzten Blutabnahme Medikamente ein?Ja Nein 

Wenn ja, bitte erläutern:

Name des Medikamentes	Wogegen	Zeitraum (Tag/Monat) - (Tag/Monat)
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___

3. Nehmen bzw. nahmen Sie seit der letzten Blutuntersuchung Nahrungsergänzungsmittel oder Mineralstoff- bzw. Vitaminpräparate ein?Ja Nein 

Wenn ja, bitte erläutern:

Art des Präparates	Verzehrmenge	Zeitraum (Tag/Monat) - (Tag/Monat)
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___
		___/___ - ___/___

3. Haben Sie seit der letzten Blutabnahme geraucht?Ja Nein 

Wenn ja, bitte erläutern:

Was? (Zigaretten, Zigarillos, Zigarre)	Menge	Wann? (Tag/Monat)
		___/___
		___/___
		___/___

 (Datum, Unterschrift)

Olivenöl Fragebogen

Probandennummer: |_|_|

Datum: |_|_|/|_|_|/|_|_|

**FRAGEBOGEN - OLIVENÖL****1. Haben Sie vor der Studie schon mal Olivenöl verzehrt?** ja nein**2. Haben Sie/Ihre Partnerin vor der Studie im eigenen Haushalt Olivenöl verwendet?** ja nein**3. Würden Sie in Zukunft Olivenöl für Ihren Eigenverbrauch kaufen?** ja nein (→ Fragebogen beendet)**4. Welche Olivenölsorte würden Sie überwiegend kaufen?** natives bzw. extra natives Olivenöl raffiniertes Olivenöl**5. Welchen Geschmack sollte dieses Olivenöl haben?**

Erstellen Sie eine Rangfolge von 1 bis 3 der für Sie wichtigen Geschmackskriterien für das Olivenöl! (1 = am wichtigsten, 2 = wichtig, 3 = weniger wichtig) Alle anderen Geschmackskriterien sollen offen bleiben.

 geschmacksneutral fruchtig milder Olivengeschmack nussig kräftiger Olivengeschmack herb, bitter Sonstiges.....

Ernährungsprotokoll (Auszug)



Ernährungsprotokoll

Probandennummer:

Zeitraum: von _____

bis _____

Sehr geehrte Studienteilnehmer,

im Rahmen des EUROLIVE-Projektes ist es notwendig, etwas über Ihre allgemeinen Ernährungsgewohnheiten zu erfahren. Wir bitten Sie deshalb, an **3 Tagen** (Sonntag bis Dienstag) ein **Ernährungsprotokoll** zu führen und dies ausgefüllt zu dem Blutentnahmetermin mitzubringen.

Dafür ist es **wichtig**, dass Sie Ihre **Ernährungsgewohnheiten** in dieser Zeit **nicht ändern** und dass Sie **vollständig und ehrlich alles aufschreiben**, was Sie verzehrt haben. Essen Sie immer die gewohnten Lebensmittel und die gewohnten Mengen.

Bevor Sie jedoch mit der Protokollierung am ersten Tag beginnen, beachten Sie bitte die Hinweise und Hilfestellungen auf den nächsten Seiten.

Sollten Sie noch weitere Fragen haben, stehen wir Ihnen gern unter folgender Telefonnummer zur Verfügung:

Frau Machowetz (033200 / 88 -)

Bei dringenden Fragen können Sie Frau Machowetz auch unter ihrer Handy-Nummer (..... /) außerhalb der normalen Arbeitszeit erreichen.

Wir bedanken uns herzlich für Ihre Teilnahme und Mitarbeit!

Und so wird's gemacht:

- Füllen Sie bitte das Protokoll bei jeder Mahlzeit aus. Notieren Sie alle Lebensmittel und Getränke so genau wie möglich. Vergessen Sie bitte nicht, auch kleine Zwischenmahlzeiten anzugeben.
- Notieren Sie Ihren Verzehr nicht erst am Ende des Tages aus dem Gedächtnis. Nehmen Sie das Protokoll deshalb bitte immer mit, auch wenn Sie bei Freunden eingeladen sind oder im Restaurant essen.
- Geben Sie die verzehrten Mengen der Lebensmittel und Getränke in haushaltsüblichen Maßen an:
 - Teelöffel (TL), Esslöffel (EL), gehäuft (geh.), gestrichen (gestr.)
 - Tasse (klein 150 ml, mittel 200 ml, groß 250 ml)
 - Glas (klein 150 ml, mittel 200 ml, groß 250 ml)
 - Messerspitze = die Menge Gewürz, Backpulver usw. die auf eine Messerspitze passt, etwa 2 - 4 Prisen
 - Prise = so viel Salz, Pfeffer usw. wie zwischen Daumen und Zeigefinger passt
 - Schuss = die Flasche kurz kippen, vorsichtshalber den Daumen auf die Öffnung halten; Angabe oft bei Essig, Likör oder Wein
 - Spritzer = 3 - 4 Tropfen; Angabe oft bei Zitronensaft oder Sojasoße
 - Scheibe, Stück - jeweils dick oder dünn, groß oder klein angeben
- Bei Fertigprodukten ist das Gewicht auf der Verpackung vermerkt, z.B. 150 g Joghurt, 33,5 g Müsliriegel. Geben Sie gegebenenfalls auch die Nährwertangaben auf der Verpackung an.
- Schreiben Sie nur die wirklich verzehrten Mengen auf.

- Wenn Sie Speisen für die Familie zubereiten, notieren Sie bitte die vollständige Zutatenliste des Rezeptes in der dafür vorgesehenen Spalte. Den *tatsächlich* von Ihnen *verzehrten Anteil* vermerken Sie dann unter der entsprechenden Tageszeit (z.B. ¼ Rezept Pizza, 1½ Suppenteller Rezept Eintopf, 3 geh. EL Rezept Gemüsecurry).
- Vergessen Sie nicht, das zum Backen, Braten, Kochen etc. oder als Aufstrich verwendete Fett anzugeben (einschl. Sorte oder Handelsname)
- Geben Sie bitte die Speiseart wie folgt an: Fertiggericht *oder selbst zubereitet* *oder außer Haus verzehrt*
- Vermerken Sie bitte in der vorgegebenen Spalte die entsprechende Zahl für den Zustand des verzehrten Lebensmittels:

Zustand des verzehrten Lebensmittels:

1	frisch/roh	8	gekocht
2	tiefgefroren	9	gedünstet
3	getrocknet	10	gedämpft
4	eingeweckt	11	gebraten/frittiert
5	konserviert	12	gegrillt/getoastet
6	aufgetaut	13	gebacken/gebraten (Ofen)
7	erwärmt	14	gegart

Bezeichnen Sie alle Lebensmittel möglichst genau: Beispiele



Schlagsahne:

Durch das Schlagen der Sahne verdoppelt sich das Volumen der Sahne, d.h. 1EL geschlagene Sahne entspricht ½ gestrichenen EL flüssiger Sahne.
z. B. 1 kleines Stück Apfelhefekuchen mit 2 EL geschlagener Sahne (30 % Fett)



Käse:

Alle Käsesorten, auch Frischkäse, werden in verschiedenen Fettstufen angeboten. Achten Sie bitte auf die Kennzeichnung der Ware auf der Verpackung bzw. an der Käsetheke.
z.B. Gouda 45 % Fett i. Tr. oder Frischkäse 17 % Fett absolut



Brot und Backwaren:

Geben Sie genau an, welches Brot Sie verzehren, z.B. Mischbrot, Weizen- oder Vollkorntoast, Weizenbrötchen, Vollkornbrot, Knäckebrot, Pumpernickel



Getreide-Produkte:

Nudeln (gekocht), Reis parboiled (gebraten)



Kuchen:

Hefestreuselkuchen mit Obst, Mürbeteigplätzchen, Obsttorte mit Biskuitboden, Rührkuchen, Buttercremetorte



Fette und Öle:

Geben Sie bitte die Art, z.B. Olivenöl, Margarine (halbfett), Butter und die Menge [in Teelöffel (TL), Esslöffel (EL)] des verwendeten Fettes/Öles an.



Fleisch- und Wurstwaren:

Rindfleisch mager (geschmort), Schweineschnitzel halbfett paniert (gebraten), Schinken (gekocht oder geräuchert). Charakterisieren Sie gegebenenfalls die Lebensmittel mit: fett, mager und fettreduziert näher.



Milch:

Notieren Sie bitte, welche Milchart Sie verzehrt bzw. verwendet haben: H-Milch, pasteurisierte Milch, Vorzugs-Rohmilch, Sterilmilch mit ihrem entsprechenden Fettgehalt, z.B. frische Vollmilch 3,5 % Fett



Milch im Kaffee:

Verwenden Sie nur kleine Mengen Milch im Kaffee, so drücken Sie die Menge in Esslöffel aus. Geben Sie auch den Fettgehalt der Kondensmilch an.

z.B. 1 kleine Tasse Kaffee mit 1EL Kondensmilch (4,0 %)



Joghurt:

Wenn Sie einen Becher Joghurt essen, achten Sie bitte darauf, wieviel Gramm dieser Becher enthält (125 g, 150 g, 175 g, 200 g). Notieren Sie auch den Fettgehalt und den Namen des Produktes! Verzehren Sie den Joghurt nicht vollständig, so rechnen Sie bitte den verzehrten Inhalt in Esslöffel (EL) um. So entspricht z. B. ein Becher Joghurt von 150 g 7½ EL (1 Esslöffel = 20 g)

z.B. 125 g Fruchtjoghurt (3,5 %), 3 EL Joghurt Natur (3,5 %) oder ½ Becher (200 ml) Trinkfruchtjoghurt



Getränke:

Orangensaft, Orangenektar, Orangenfruchtsaftgetränk, Apfelsaftschorle (1:1), Bier (Pils), Hefeweizen Rotwein (trocken), Pflaumenschnaps 40 % Alk.



Soßen und Suppen:

Bratensoße gebunden, Holländische Soße, Essig-Öl-Salatsoße, Joghurdressing, Klare Suppe, Eintopf, Cremesuppe, Soljanka



Obst und Gemüse:

Apfel mit Schale und Gehäuse (groß), Banane ohne Schale (mittel), Mohrrübe roh (klein), Erbsen (Feinfrost) gedünstet, ½ Konserve (325 g) Pfirsiche

MUSTERPROTOKOLL

Datum:		Wochentag:		
Uhrzeit	Lebensmittel / Zutaten	verzehrte Menge	Zustand	Bemerkungen
1. Frühstück				
	Vollkornbrötchen	2 Stück		mittlere Größe
	Roggenmischbrot	1 Scheibe		dünn
	Butter	2 TL		geh.
	Gouda (45 % Fett i. Tr.)	2 Sch.		mittlere Größe
	Erdbeermarmelade	2 TL		geh.
	Schinken (geräuchert)	1 Scheibe		dünn
	Kaffee mit Milch	1 Tasse		kleine Tasse
	Kondensmilch für den Kaffee (7,5 %)	1 TL		
	Orangensaft (100 %)	1 Glas		großes Glas
2. Frühstück				
	Apfel (geschält)	1	1	mittlere Größe
Mittag				
	Rezept „Gulasch mit Gemüse“ davon gegessen:			
	Gulasch	1 Tasse	14	mittlere Tasse
	Nudeln	150g	8	gekocht gewogen
	Apfelsaft (100 %)	1 Glas		mittleres Glas
	Mineralwasser (Evian)	1 Glas		kleines Glas
	Banane (ohne Schale)	1	1	mittlere Größe
Nachmittagsimbiss				
	Kaffee (schwarz)	2 Tassen		kleine Tassen
	Apfeltorte (Hefekuchen)	1 Stück		klein

MUSTERPROTOKOLL

Datum:		Wochentag:		
Uhrzeit	Lebensmittel / Zutaten	verzehrte Menge	Zustand	Bemerkungen
Abendbrot				
	Vollkornbrot	2 Scheiben		mittlere Größe
	Doppelrahmfrischkäse (70 % Fett)	2 TL		geh.
	Leberwurst (fein)	2 TL		gestr.
	Tomate	1	1	klein
	Gurke (geschält)	2 Stück	1	klein
	Hefeweizen	500 ml		
	Fruchtjogurt (3,5 % Fett)	125 g		
Spätimbiss				
	Heiße Himbeeren	1 Tasse	5	klein
	Vanilleeis	2 EL	2	geh.
Sonstiges				
	Mineralwasser	1 Glas		großes Glas
	Bitterschokolade	2 Stückchen		klein
Rezepte				
	Gulasch mit Gemüse:			
	Rindfleisch (mager, Fett abgeschnitten)	400 g	11	roh gewogen
	Zwiebeln (geschält)	5	11	mittlere Größe
	Bratfett (Biskin)	3 TL		
	Ketchup (Thomy)	4 TL		
	Fleischbrühe (Maggi)	250 ml		
	Salz	2 Prisen		
	Sahne (süß, 30% Fett)	3 EL		
	rote Paprikaschote	2	11	mittlere Größe

Hinweise zum Umgang mit dem Olivenöl

Verwendung des Olivenöles:

- Das Olivenöl sollte möglichst das normal konsumierte Öl/Fett ersetzen und nicht zusätzlich verzehrt werden.
- Konsumieren Sie das Olivenöl roh, d.h. ohne es zu erhitzen. Demnach können Sie das Öl nicht zum Kochen, Braten und Backen verwenden, sondern erst nach der Zubereitung der warmen Mahlzeit (wenn diese bereits etwas abgekühlt ist) die Speise damit anreichern.
- Wenn Sie für mehrere Personen Essen zubereiten, sollte die Anreicherung der Mahlzeit erst nach der Portionierung auf dem eigenen Teller erfolgen, so dass auch nur Sie das Olivenöl verzehren.
- Versuchen Sie möglichst nur die Menge an Essen auf Ihren Teller zu tun, die Sie auch verzehren. Damit soll verhindert werden, dass mit Olivenöl angereicherte Mahlzeitreste übrig bleiben, die für einen Verzehr zu einem späteren Zeitpunkt erwärmt werden müssen.
- Tunken Sie das restliche auf dem Teller verbleibende Olivenöl mit Brot auf und verzehren Sie es bitte vollständig.
- Nehmen Sie die gesamten 25 ml des Olivenöles möglichst über den Tag verteilt zu sich.







Lagerung des Olivenöles:

Das Olivenöl sollte an einem dunklen und trockenen Ort (z.B. im Schrank oder in einer geschlossenen Box) aufbewahrt werden. Bitte lagern Sie das Olivenöl bei 20 bis 25 °C und nicht im Kühlschrank, da es sonst ausflockt.

Bitte bringen Sie die ungereinigten Olivenölbehälter am Ende der Verzehrsperiode wieder mit !!

Zusätzliche Ernährungshinweise

Um eine erhöhte Aufnahme an Antioxidantien und phenolischen Verbindungen im Verlauf der Studie zu vermeiden, dürfen pro Tag nicht mehr als:

- 2 Portionen Gemüse bzw. Gemüsesäfte
(1 Portion entspricht 100 - 150 g oder Stück bzw. 200 ml) 
- 3 Portionen Obst bzw. Obstsäfte
(1 Portion entspricht 100 - 150 g / Stück bzw. 200 ml) 
- 3 Tassen Tee bzw. Kaffee
(1 Tasse entspricht 150 ml) 
- 2 Schokoladenriegel (je 50 g)
oder eine halbe Tafel Schokolade (50 g) 
- 2 Gläser Rotwein
(1 Glas entspricht 200 ml) 
- maximal 1 l Bier 

verzehrt werden. Bitte vermeiden Sie außerdem Oliven sowie speziell mit Vitaminen und Mineralstoffen angereicherte Lebensmittel (z.B. ACE-Säfte, Multivitaminsäfte).

Retrospektives Aktivitätsprotokoll

Identifikation <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	Datum: <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>
--	--

AKTIVITÄTSPROTOKOLL

1. Welcher Art von körperlichen Aktivitäten gehen Sie in ihrer Arbeit nach (oder in ihrem Alltag) ?

- Ich sitze hauptsächlich und bewege mich nur wenig (z.B. Verwaltungspersonal)
- Ich sitze hauptsächlich und bewege mich kontinuierlich (z.B. Kassierer)
- Ich laufe viel aber ohne starke körperliche Anstrengung (z.B. Verkäufer)
- Ich laufe viel mit zum Teil großer körperlicher Anstrengung (z.B. Postbote)
- Ich führe die meiste Zeit körperlich schwere Arbeit aus (z.B. Möbelpacker)

2a. An wie vielen Tagen gehen Sie durchschnittlich in einem Monat spazieren?
 _____Tage/Monat

b. Wie viele Minuten sind das durchschnittlich an jedem dieser Tage?
 _____Minuten/Tag

3a. An wie vielen Tagen steigen Sie durchschnittlich in einem Monat Treppen
 (aufwärts)?
 _____Tage/Monat

b. Wie viele Stockwerke sind das durchschnittlich an jedem dieser Tage (aufwärts)?
 _____Stockwerke/Tag

4a. An wie vielen Tagen arbeiten Sie durchschnittlich in einem Monat in Ihrem Garten
 oder verrichten ähnlich anstrengende Tätigkeiten?
 _____Tage/Monat

b. Wie viele Minuten sind das durchschnittlich an jedem dieser Tage?
 _____Minuten/Tag

5a. An wie vielen Tagen treiben sie durchschnittlich in einem Monat Sport?
 _____Tage/Monat

b. Welche Sportart(en)?

c. Wie viele Minuten sind das durchschnittlich an jedem dieser Tage?
 _____Minuten/Tag

Berechnete kcal/Woche: _____

Prospektives Aktivitätsprotokoll (Auszug)



Aktivitätsprotokoll

Probandennummer:

Zeitraum: von _____

bis _____

Sehr geehrte Studienteilnehmer,

im Rahmen der EUROLIVE-Studie benötigen wir Angaben bezüglich Ihrer täglichen Aktivitäten. Deshalb bitten wir sie, an 7 aufeinanderfolgenden Tagen ein Aktivitätsprotokoll zu führen und dieses ausgefüllt zum Blutabnahmetermin mitzubringen.

Dafür ist es wichtig, dass Sie Ihre üblichen Aktivitäten in dieser Zeit beibehalten, und dass Sie ehrlich und vollständig alles aufschreiben.

Bevor Sie jedoch die Protokollierung am ersten Tag beginnen, beachten Sie bitte die Hinweise und Hilfestellungen auf der nächsten Seite.

Sollten Sie noch weitere Fragen haben, stehen wir Ihnen gern unter folgender Telefonnummer zur Verfügung:

Frau Machowetz Tel.: 033200 / 88 -

Bei dringenden Fragen können Sie Frau Machowetz auch unter ihrer Handynummer (...../.....) außerhalb der normalen Arbeitszeit anrufen.

Vielen Dank für Ihre Teilnahme und Mitarbeit!

Und so wird`s gemacht:

- Füllen Sie das Protokoll bitte an den im Studientagebuch vorgeschriebenen Tagen genau und vollständig aus.
- Kreuzen Sie dafür alle 15 min das Kästchen mit der jeweiligen Aktivität an. (ein Kästchen = 15 min)
- Bei Tätigkeiten, die nicht aufgeführt sind, kreuzen Sie bitte ähnlich anstrengende Aktivitäten an oder ergänzen Sie diese unter "nicht angeführte Tätigkeiten".
- Unterscheiden Sie beim Ausfüllen bitte zwischen Aktivitäten während der Berufstätigkeit und Aktivitäten außerhalb der Berufstätigkeit.
- Es ist empfehlenswert, das Protokoll den ganzen Tag bei sich zu führen, um es immer wieder neu zu ergänzen. So können Tätigkeiten nicht vergessen werden.
- Beim Ausfüllen der sportlichen Aktivitäten beachten Sie bitte, nur die wirklich aktiven Phasen unter der entsprechenden Sportart zu notieren. Alle Pausen tragen sie bitte bei Aktivitäten außerhalb der Berufstätigkeit ein.
- Unterstreichen Sie bitte zusätzlich die entsprechende Sportart, falls diese als Beispiel bereits angegeben ist. Sollte Ihre Sportart nicht erwähnt sein, bitten wir Sie, diese unter "nicht angeführte Sportarten" genau zu notieren.

Tätigkeit		
★ Schlaf- und Ruhezeiten		
★ Aktivitäten während der Berufstätigkeit		
Sitzen	leichte Arbeit (z.B. Schreibtischarbeiten, PC-Arbeit)	
	mittelschwere Arbeit (z.B. Gabelstapler fahren, Kassiererin)	
Stehen	leichte Arbeit (z.B. an Ladentheke arbeiten, Laborarbeit)	
	mittelschwere Arbeit (z.B. Regale auffüllen, schnelle Fließbandarbeit)	
	schwere Arbeit (z.B. Maurerarbeiten)	
Gehen	langsam	
	zügig/schnell	
	etwas tragend (z.B. Tablets, Geschirr, Tasche)	
	etwas Schweres tragend (ca. 20 kg)	
Weg zur/von Arbeit	Gehen	langsam
		zügig/schnell
	Radfahren	langsam ¹ (< 15 km/h)
		mäßig ² (15 - 20 km/h)
		schnell ³ (20 - 23 km/h)
		sehr schnell ⁴ (23 - 26 km/h)
	Auto fahren, aktiv	
Bus, Bahn, Auto fahren, passiv		
nicht angeführte Tätigkeiten:		
★ Aktivitäten außerhalb der Berufstätigkeit		
Tätigkeiten im Sitzen (z.B. essen, lesen, fernsehen, telefonieren, Auto fahren)		
Tätigkeiten im Stehen (z.B. Körperpflege), langsames gehen (< 4 km/h)		
leichte Hausarbeit (z.B. kehren, Staub wischen, kochen, bügeln), musizieren		
Lebensmittel einkaufen, Betreuung von Kindern, zügiges gehen (4 - 6 km/h)		
mittelschwere Haus- und Gartenarbeit (z.B. Fenster putzen, Rasen mähen)		
Reparaturarbeiten, handwerkliche Tätigkeiten (z.B. Fliesen legen, Malerarbeiten)		
körperlich schwere Haus- und Gartenarbeit (z.B. umgraben, Schnee schaufeln)		
sehr schwere Haus- und Gartenarbeit (Holz hacken, tragen schwerer Lasten)		
nicht angeführte Tätigkeiten:		
★ Sportliche Aktivitäten		
Bowling, Billard, Surfen		
Gymnastik, langsames Radfahren ¹ , Reiten, Tischtennis, Trainer (allg.)		
Golf, Tanzen		
Aerobic, Basketball, mäßiges Radfahren ² , Wandern		
Badminton, Inline Skating, Rudern, Skifahren, Tennis		
Bergsteigen, Fußball, Handball, Jogging, schnelles Radfahren ³ , Schwimmen		
Judo, sehr schnelles Radfahren ⁴ , Squash		
nicht angeführte Sportarten:		

Urinprotokoll

24 - Stunden - Urin - Sammlung

- Sammeln Sie bitte am 1. Tag der Urinsammlung erst ab dem zweiten Urin und dann jede weitere Probe. Bitte beginnen Sie nicht mit der Sammlung des ersten Urins.
- Der letzte Urin, den Sie in die Sammelflasche füllen, ist der erste Urin des nächsten Tages.
- Sammeln Sie die Urinproben zuerst im Messbecher und bestimmen Sie das Volumen jeder Probe. Tragen Sie das bestimmte Volumen in das 24-Stunden-Urin-Protokoll ein. Füllen Sie anschließend die Probe in eine der Sammelbehälter.
- Eine Hilfestellung, um sich an das Sammeln aller Proben zu erinnern, kann eine Sicherheitsnadel sein, die Sie an Ihrer Unterwäsche befestigen.
- Wenn Sie zu Hause sind, stellen Sie einen der beiden Sammelbehälter, falls möglich, in Ihr WC, um sich selbst an das Sammeln zu erinnern. Der andere Sammelbehälter kann für unterwegs verwendet werden.

Sollten Sie noch weitere Fragen haben, stehen wir Ihnen gerne unter der folgenden

Telefonnummer zur Verfügung: Frau Machowetz **Tel: 033200 / 88 -**

Behälternummern: ____ / ____	Identifikation: _ _ _ / _ _ _
------------------------------	--------------------------------

24 - Stunden - Urin - Protokoll

Sammeltage: |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| ab 2. Urin bis |_|_|_|/|_|_|_|/|_|_|_| nur 1.Urin

① **Bitte notieren Sie Ihre Urinabgaben!**

Urinabgabe	Uhrzeit	Volumen (in ml)
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

② **Haben Sie am Tag der Urinsammlung Medikamente eingenommen? Wenn ja, bitten wir Sie um nähere Informationen!**

Name des Medikamentes	Dosierung	Häufigkeit der Einnahme

③ **Haben Sie am Tag der Urinsammlung Vitamin- bzw. Mineralstoffpräparate eingenommen? Wenn ja, bitten wir Sie um nähere Informationen!**

Name des Präparates	Dosierung	Häufigkeit der Einnahme

11.5 Briefe an die Probanden

Screening

«Vorname» «Name»

«Adresse»

Bergholz-Rehbrücke, den «Datum»

«PLZ», «Ort»

Sehr geehrter Herr «Vorname» «Name»,

wir bedanken uns für Ihr Interesse an unserer EUROLIVE-Studie.

EUROLIVE ist ein Projekt, an dem sich neben unserem Institut Forschungseinrichtungen aus verschiedenen europäischen Ländern beteiligen. In der Studie soll die Wirkung von kaltgepresstem, einfachem und raffiniertem Olivenöl als möglicher Schutzfaktor gegenüber Herz-Kreislauf-Erkrankungen untersucht werden.

Sie haben uns Ihr Interesse an einer Studienteilnahme mitgeteilt. Das beiliegende Informationsblatt beschreibt Ihnen die geplanten Untersuchungen. Außerdem finden Sie einen Fragebogen, den Sie, wenn Sie sich zur Studienteilnahme bereit erklären, bitte ausfüllen und im frankierten Rückumschlag innerhalb einer Woche an uns zurückschicken.

Für die endgültige Probandenauswahl benötigen wir allerdings einige Blut- und Urinparameter (z.B. Blutfette, Cholesterin, Bilirubin). Nach Eingang Ihres Fragebogens setzen wir uns mit Ihnen in Verbindung und vereinbaren einen Termin für die Blut- und Urinanalyse.

Zögern Sie nicht, uns unter den oben angegebenen Telefonnummern anzurufen, wenn Sie weitere Fragen zur Studie oder zum Ausfüllen des Fragebogens haben. Wir stehen Ihnen für eventuelle Fragen gern zur Verfügung.

Für Ihre Unterstützung bedanken wir uns im Voraus und hoffen auf eine gute Zusammenarbeit mit Ihnen.

Mit freundlichen Grüßen

Dr. oec. troph. C. Koebnick

Dipl. oec. troph. A. Machowetz

Ausschluss Studienteilnahme

«Vorname» «Name»
«Adresse»

Bergholz-Rehbrücke, den «Datum»

«PLZ», «Ort»

Sehr geehrter Herr «Vorname» «Name»,

wir haben uns sehr über Ihre Bereitschaft gefreut, an unserer EUROLIVE-Studie teilzunehmen. Die Auswertung aller Vorinformationen, die wir von Ihnen erhalten haben, ergab allerdings, dass Sie nicht in das vorher festgelegte Auswahlprofil passen. In Ihrem Falle betrifft das folgende(n) Punkt(e):

- Einnahme von Vitamin- und Mineralstoffpräparaten
- gesundheitliche Gründe
- Medikamenteneinnahme
- bestimmte Blut- und/oder Urinparameter liegen nicht im Referenzbereich
- Zeitpunkt des letzten Rauchens liegt weniger als ein Jahr zurück
- zu hohe energetische Aufwendungen während der Freizeitaktivitäten
- Durchführung einer Diät
- zu hoher Konsum an alkoholischen Getränken
- Konsum von Rauschmitteln
- Urlaub in einer entscheidenden Phase der Studie
- große Anzahl der Interessenten, sodass der Zufall entscheiden musste
- Einreichung der Unterlagen nach dem.....

Wie Sie wissen, sind wir verpflichtet, gemäß den Bestimmungen des Brandenburgischen Datenschutzgesetzes unsere Namens- und Adressdatei unmittelbar nach Ausschluss der Teilnahme zu löschen. Falls Sie Interesse haben, dass Ihr Name und Ihre Adresse in unserer Probandendatei für eventuelle neue Studien verbleiben soll, dann bitten wir Sie den folgenden Abschnitt auszufüllen und im beiliegenden Umschlag an uns zurückzusenden.

Wir bedanken uns für Ihr Interesse und wünschen Ihnen ein gesundes Neues Jahr.

Mit freundlichen Grüßen

Dr. oec. troph. C. Koebnick

Dipl. oec. troph. A. Machowetz

Informationsveranstaltung / Ergebnisse Screening

«Vorname» «Name»
«Adresse»

Bergholz-Rehbrücke, den «Datum»

«PLZ», «Ort»

Sehr geehrter Herr «Vorname» «Name»,

wir freuen uns, Ihnen mitteilen zu können, dass Sie das Screening für die EUROLIVE-Studie erfolgreich gemeistert haben und Ihrer Teilnahme damit nichts mehr im Wege steht. Die Ergebnisse der Screening-Untersuchung finden Sie dem Schreiben beigelegt.

Um Ihnen den weiteren Studienablauf zu erläutern, möchten wir Sie nächste Woche zu einer Informationsveranstaltung ins Institut einladen. Dafür stehen die nachfolgenden Termine zur Verfügung :

Mittwoch, 15. Januar 2003	16.00 Uhr
	18.30 Uhr
Donnerstag, 16. Januar 2003	10.00 Uhr
	16.00 Uhr
Freitag, 17. Januar 2003	16.00 Uhr

Eine genaue Absprache des Zeitpunktes werden wir telefonisch mit Ihnen in den nächsten Tagen vereinbaren. So haben Sie ausreichend Zeit sich Ihren gewünschten Termin auszuwählen.

Da Sie im Verlauf der Studie im zwei- bzw. dreiwöchigen Rhythmus immer am selben Wochentag zur Blutabnahme ins Institut kommen sollen, würden wir Sie bitten, uns einen Wochentag vorzuschlagen, der für Sie am günstigsten ist.

Wir wünschen Ihnen einen angenehmen Studienbeginn und eine erfolgreiche Studienzeit.

Mit freundlichen Grüßen

Dr. oec. troph. C. Koebnick

Dipl. oec. troph. A. Machowetz

«Vorname» «Name»
«Adresse»

Bergholz-Rehbrücke, den «Datum»

«PLZ», «Ort»

Gemessene Blutparameter	Wert	Maßeinheit	Normbereich Männer
ALAT		U/l	≤ 40
Kreatinin		μmol/l	62,0 - 120,0
Triglyzeride		mmol/l	0,68 - 1,88
Cholesterin		mmol/l	niedriges Risiko < 5,2 hohes Risiko > 6,5
Glukose		mmol/l	3,61 - 6,11
Hämoglobin		g/dl	14 - 18
Leukozyten		Gpt/l	4,0 - 9,0
Thrombozyten		Gpt/l	140 - 450

Gemessene Urinparameter	Wert
Leukozyten	
Nitrit	
pH-Wert	
Protein	
Glukose	
Ketone	
Urobilinogen	
Bilirubin	
Blut	
- negativ (Normwert) , +....geringfügig erhöht , ++.... mäßig erhöht, +++.... stark erhöht	

Laborwerte – EUROLIVE Screening

Laborwerte sind Momentaufnahmen unseres Körpers. Sie geben Auskunft darüber, welche Stoffe gerade in welchen Mengen im Körper vorhanden sind. Sie sind ständigen Veränderungen ausgesetzt und diversen Einflüssen und Faktoren unterworfen. Deswegen dürfen Laborergebnisse nur im Zusammenhang bewertet werden. Einfluss auf Laborwerte haben verschiedene Faktoren: Geschlecht, Alter, Ernährung, psychische und physische Belastungen, Tagesrhythmus, Medikamente und Erkrankungen.

Gemessene Blutparameter

ALAT (Normbereich: < 40 U/l)

Die Alanin-Aminotransferase (ALAT) ist ein Enzym, dessen höchste Konzentration in den Leberzellen vorkommt. Werden erhöhte ALAT-Werte im Blut nachgewiesen, weist dies auf eine Zellschädigung hin. Dabei steht die Höhe der ALAT-Konzentration im Zusammenhang mit der Anzahl der betroffenen Leberzellen. Bei akuter Leberentzündung steigt die ALAT-Konzentration stark an.

Kreatinin (Normbereich: 62,0 - 120,0 µmol/l)

Kreatinin entsteht bei der Muskelarbeit durch den Abbau der Energiespeicher Kreatin und Kreatininphosphat. Die Kreatininmenge ist daher abhängig von der Muskelmasse und der Muskelarbeit. Kreatinin wird fast vollständig über die Nieren ausgeschieden. Wenn man von exzessiver Fleischzufuhr absieht, ist der Kreatininspiegel im Blut nahrungsunabhängig und steht in Verbindung mit der Filterfunktion der Nieren. Die Kreatininspiegel steigen erst an, wenn mehr als 50 Prozent der Nierenfilter arbeitsunfähig sind. Daher dient dieser Laborwert als Maß für eine zunehmende Nierenfunktionsstörung.

Triglyzeride (Normbereich: 0,68 - 1,88 mmol/l)

Die Triglyzeride sind Fette, die aus einem Glycerinmolekül und drei Fettsäuren aufgebaut sind. Sie dienen den Zellen zur Energiegewinnung. Ein Teil von ihnen wird vom Organismus selbst gebildet. Nur die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die ebenfalls an Glycerinmoleküle gebunden sein können, müssen über die Nahrung aufgenommen werden.

Eine Erhöhung der Triglyzerid-Konzentration kann unterschiedliche Ursachen haben. Dazu gehören beispielsweise Lebererkrankungen, Nierenerkrankungen, Gicht oder Bauchspeicheldrüsenentzündungen sowie eine Unterfunktion der Schilddrüse. Der Stellenwert dieser Fette als Risikofaktor für koronare Herzerkrankungen ist immer noch umstritten, obwohl man bei vielen Herzinfarktpatienten erhöhte Triglyzeridwerte nachweisen konnte.

Cholesterin (Normbereich: < 5,2 mmol/l)

Cholesterin wird einerseits mit tierischen Lebensmitteln aufgenommen, andererseits auch vom Körper selbst synthetisiert. Es ist ein wichtiger Bestandteil für die körpereigene Produktion von Hormonen und Gallensäuren sowie für den Aufbau der Zellmembranen. Idealerweise besteht ein Gleichgewicht zwischen dem aufgenommenen und selbst produzierten Cholesterin einerseits und dem für die genannten Aufbauvorgänge benötigten Cholesterin andererseits. Funktioniert diese Regulation nicht, steigt die Konzentration von Cholesterin im Blut an. Dieser Vorgang ist mit einem hohen Risiko für die vorzeitige Entstehung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen verbunden, welche zu Blutgefäßverengungen und somit zu einer Verringerung des Blutflusses führen. Eine solche Verringerung steigert das Risiko, einen Herzinfarkt oder Schlaganfall zu erleiden.

Glukose (Normbereich: 3,61 - 6,11 mmol/l)

Die Messung der Glukose im Blut (Blutzucker) ist ein einfaches und schnelles Verfahren zur Diagnostik und zur Verlaufskontrolle von Krankheiten mit zu hohem oder zu niedrigem

Blutzuckerspiegel. Vor allem beim Diabetes mellitus, der „Zuckerkrankheit“, spielt diese Untersuchungsmethode eine große Rolle. Die Zuckerkrankheit führt zu einem Mangel an Insulin, einem Hormon, das die Aufnahme der Glukose in die einzelnen Körperzellen fördert und dadurch den Blutzuckerspiegel senkt. Bei einem Insulin-Mangel ist der Blutzuckergehalt daher krankhaft erhöht. Dies kann schwerwiegende Folgen haben wie Bluthochdruck, Nieren- und Augenleiden, Nervenschädigungen oder Arteriosklerose.

Hämoglobin (Normbereich: 14 - 18 g/dl)

Das Hämoglobin, der rote Blutfarbstoff, ist ein wichtiger Bestandteil der roten Blutkörperchen (Erythrozyten) und hat die Aufgabe, Sauerstoff in der Lunge zu binden und über die Blutgefäße zu den Zellen zu transportieren. Die Hämoglobin-Konzentration ist neben der Erythrozytenzahl und dem Hämatokritwert das dritte Kriterium zur Diagnose und Klassifikation von Anämien (zu wenig rote Blutkörperchen) und Polyglobuline (zu viel rote Blutkörperchen).

Leukozyten (Normbereich: 4,0 - 9,0 Gpt/l)

Bei den Leukozyten, auch weiße Blutkörperchen genannt, sind unterschiedliche Zelltypen zusammengefasst, die ihre Funktion in der Immunabwehr des Organismus in den verschiedenen Körpergeweben erfüllen. Sie schützen den Menschen vor schädigenden Einflüssen und machen Krankheitserreger wie Bakterien, Pilze und Viren unschädlich. Sie spielen folglich eine wesentliche Rolle und sind somit auch in höheren Konzentrationen bei Infektionen und Entzündungen sowie bei allergischen Reaktionen nachzuweisen. Eine Erhöhung der Leukozyten findet man außerdem bei Knochenmarkerkrankungen (Leukämien), bösartigen Tumoren oder akutem Blutverlust. Eine Verminderung der Leukozyten tritt auf bei Grippe, Masern, Röteln oder Typhus.

Thrombozyten (Normbereich: 140 - 450 Gpt/l)

Die Thrombozyten (Blutplättchen) spielen eine wichtige Rolle bei der Blutgerinnung. Sie registrieren, dass die Gefäßwand verletzt ist, kleben aneinander und bilden einen Pfropf auf der Gefäßwandöffnung. Sie verhindern damit, dass Blut verloren geht und Keime in den Körper gelangen. Gleichzeitig setzen sie die Blutgerinnung in Gang. Eine Verminderung der Thrombozytenzahl kann bei Karzinomen, Nahrungsmittelallergien oder Infektionen auftreten. Die Anzahl der Blutplättchen nimmt hingegen zu bei Erkrankungen des Knochenmarks, nach großen Operationen, bei Tuberkulose oder bei entzündlichen Erkrankungen.

Gemessene Urinparameter

Leukozyten

Die vermehrte Ausscheidung weißer Blutkörperchen im Harn ist ein wichtiger Hinweis für eine Entzündung der Nieren und/oder der Harnwege infolge bakterieller Infektion. (siehe dazu auch Erläuterungen Blutparameter)

Nitrit

Nitrit ist ein organischer Stoff in den Harnwegen, der von Bakterien aus Nitrat gebildet wird. Die häufigsten Erreger von Harnwegsinfektionen, wie beispielsweise das Bakterium *Escherichia coli*, wandeln das im Harn vorhandene Nitrat zu Nitrit um. Damit ist der Nachweis von Nitrit im Harn ein indirekter Beweis für das Vorhandensein von (nitritbildenden) Keimen im Harn und folglich von Harnwegsinfektionen.

pH-Wert

Der pH-Wert des Urins kann zwischen basischem und saurem Bereich schwanken. Diese Schwankungen sind einerseits abhängig von der Ernährung, können aber auch durch Stoffwechselstörungen, Harnwegsinfektionen oder Krebserkrankungen hervorgerufen werden. Bei Erkrankungen, die die Funktion der Nieren oder Harnwege beeinflussen, führt die Bestimmung des Harn-pH-Wertes in Kombination mit anderen Werten zur Diagnose.

Protein

Die Ausscheidung von Eiweiß (Protein) im Urin ist ein wichtiges, aber unspezifisches Zeichen für eine Nierenerkrankung. Die Ursache dafür ist entweder eine erhöhte Durchlässigkeit der Harnfilter, eine verminderte Wiederaufnahme von Eiweiß in den Nierenkanälchen oder eine kombinierte Störung. Die Höhe der Eiweißausscheidung steht in der Regel in direkter Beziehung zum Ausmaß des Nierenschadens, der immer einer weiteren Abklärung bedarf. Die spezifische Erkrankung, die eine Nierenschädigung und somit eine Ausscheidung von Eiweiß über den Urin zur Folge hat, kann anhand des Musters der Eiweißausscheidung erkannt werden.

Glukose

Glukose ("Zucker") im Urin ist der Überschuss an Zucker, der nicht mehr im Körper benötigt wird. Bei einem gesunden Menschen ist der Glukosegehalt im Urin zehnmal niedriger als im Blut. Das häufig zuerst festgestellte Zeichen für eine Diabetes-Erkrankung ist die vermehrte Ausscheidung von Glukose im Harn. Die Harnglukose-Bestimmung ist somit die wichtigste Methode zur Erkennung einer Diabetes. Daneben haben aber auch Krebserkrankungen, Entzündungen und direkte Schädigungen der Nieren durch Unfälle oder Vergiftungen erhöhte Glukose-Konzentrationen im Harn zur Folge. Ein zu niedriger Glukosegehalt im Urin kommt nur bei extremer Unterernährung vor.

Ketone

Der Nachweis von Ketonkörpern im Harn ist ein wichtiger Hinweis für eine Stoffwechselentgleisung eines Diabetikers, bei denen immer weniger Zuckermoleküle vom Organismus verwertet und stattdessen Fettsäuren aus dem Fettgewebe freigesetzt werden. Die Erhöhung der Ketone im Blut kann bei den Betroffenen zu einer Säurevergiftung (Ketoazidose) und zum bedrohlichen Koma führen. Die Ketone werden durch die Niere ausgeschieden. Aber zusätzlich werden, damit das Blut elektrisch im Gleichgewicht bleibt, auch wertvolle Elektrolyte, vor allem Natrium, ausgeschieden. Betroffen sind vor allem unerkannte, insulinpflichtige Diabetiker.

Bilirubin

Bilirubin ist ein gelbbrauner Gallenfarbstoff, der als Bestandteil des Blutes dem Serum gelbe Farbe verleiht. Es entsteht beim Abbau des roten Blutfarbstoffes Hämoglobin vor allem in der Milz und der Leber. Bei Gesunden ist Bilirubin im Harn nicht nachweisbar. Man findet es nur bei Erkrankungen wie Leberentzündung und Leberzirrhose oder bei einem Verschluss der Gallenwege.

Urobilinogen

Urobilinogen ist ein im Dickdarm bakteriell entstehendes Abbauprodukt des Gallenfarbstoffes Bilirubin, welches normalerweise völlig in der Leber abgebaut wird. Zur vermehrten Ausscheidung im Harn kommt es erst, wenn die Funktion der Leber eingeschränkt oder überlastet ist.

Blut

Wird Blut, d.h. Erythrozyten oder Hämoglobin, im Urin nachgewiesen, kann das auf verschiedenen Erkrankungen hinweisen. So können Harnwegsinfektionen, Steine in den Harnwegen, Erkrankungen der Prostata oder Krebserkrankungen der Harn- und Geschlechtsorgane Ursache dafür sein. Bei einem gesunden Menschen ist kein Blut in Urin nachweisbar.

Auswertung / Ergebnisse

«Vorname» «Name»
«Adresse»

Bergholz-Rehbrücke, den «Datum»

«PLZ», «Ort»

Sehr geehrter Herr «Vorname» «Name»,

ich freue mich, Ihnen die Ergebnisse Ihrer Ernährungsprotokolle mitteilen zu können. Das beiliegende Informationsblatt gibt Auskunft über die Bedeutung und die Funktion der berechneten Nährstoffe, Vitamine und Mineralstoffe. Außerdem erhalten Sie eine Übersicht über Ihre Blutfette, die von Partnern der Universität Leipzig gemessen wurden. Auch hierfür haben wir eine Übersicht erstellt, die Ihnen diese Blutparameter noch mal kurz erläutert.

Mit freundlichen Grüßen

Dipl. Oec. troph. A. Machowetz

Probandennr.: «ID»

Parameter	Ernährungsprotokoll				Zufuhrempfehlung pro Tag ¹		
	1.	2.	3.	4.	19 - 25 J.	25 - 51 J.	51 - 65 J.
Energie [kcal]	«kcal_1»	«kcal_2»	«kcal_3»	«Kcal_4»	3000	2900	2500
Kohlenhydrate [%]	«KH_1»	«KH_2»	«KH_3»	«KH_4»	> 50% ²	> 50% ²	> 50% ²
Eiweiß [%]	«EW_1»	«EW_2»	«EW_3»	«EW_4»	59g	59g	58g
Fett [%]	«F_1»	«F_2»	«F_3»	«F_4»	30% ² =97,8g	30% ² =97,8g	30% ² =97,8g
Gesättigte Fettsäuren [%]	«SFA_1»	«SFA_2»	«SFA_3»	«SFA_4»	1/3 ³	1/3 ³	1/3 ³
Einfach ungesättigte FS [%]	«MUFA_1»	«MUFA_2»	«MUFA_3»	«MUFA_4»	1/3 ³	1/3 ³	1/3 ³
Mehrfach ungesättigte FS [%]	«PUFA_1»	«PUFA_2»	«PUFA_3»	«PUFA_4»	1/3 ³	1/3 ³	1/3 ³
Cholesterin [mg]	«Chol_1»	«Chol_2»	«Chol_3»	«Chol_4»	300	300	300
Ballaststoffe [g]	«Bst_1»	«Bst_2»	«Bst_3»	«Bst_4»	30	29	25
Wasser [ml]	«Wasser_1»	«Wasser_2»	«Wasser_3»	«Wasser_4»	2700	2600	2250
Alkohol [g]	«Alk_1»	«Alk_2»	«Alk_3»	«Alk_4»	< 20	< 20	< 20

Probandennr.: «ID»

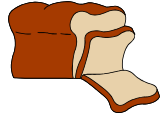











Parameter	Ernährungsprotokoll				Zufuhrempfehlung pro Tag ¹		
	1.	2.	3.	4.	19 - 25 J.	25 - 51 J.	51 - 65 J.
Vitamine							
Vit. A [µg]	«ReEq_1»	«ReEq_2»	«ReEq_3»	«ReEq_4»	1000	1000	1000
Vit. E [mg]	«VitE_1»	«VitE_2»	«VitE_3»	«VitE_4»	15	14	13
Vit. D [µg]	«VitD_1»	«VitD_2»	«VitD_3»	«VitD_4»	5	5	5
Vit. C [mg]	«VitC_1»	«VitC_2»	«VitC_3»	«VitC_4»	100	100 ³	100
Folsäure µg]	«Folsr_1»	«Folsr_2»	«Folsr_3»	«Folsr_4»	400	400	400
Vit. B12 [µg]	«BitB12_1»	«BitB12_2»	«BitB12_3»	«BitB12_4»	3	3	3
Mineralstoffe							
Kalzium [mg]	«Ca_1»	«Ca_2»	«Ca_3»	«Ca_4»	1000	1000	1000
Magnesium [mg]	«Mg_1»	«Mg_2»	«Mg_3»	«Mg_4»	400	350	350
Eisen [mg]	«Fe_1»	«Fe_2»	«Fe_3»	«Fe_4»	10	10	10

¹ Deutsche Gesellschaft für Ernährung: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Umschau-Verlag 2000

² bezogen auf die Gesamtenergiezufuhr

³ bezogen auf die Gesamtfettzufuhr

⁴ Daten aus dem 7-Tage-Alkoholverzehrprotokoll

Nährstoff	Wichtig für:	Gute Quellen sind:	
Kohlenhydrate	Energieförderer für alle Zellen des Organismus	Brot, Brötchen, Reis, Nudeln, Honig, Schokolade, Trockenfrüchte, Obstsaft, Limonaden, Obst und Gemüse	
Eiweiß	Bildung von Hormonen und Enzymen	Käse, Wurst, Fleisch, Fisch, Eier, Weizenkeime	
Fett	Energieförderer, Bildung des Energiedepots und von Signalstoffen, Wärmeisolation	Wurstwaren, Milch und Milchprodukte, pflanzliche Öle, Nüsse (z.B. Haselnuss, Mandel), verschiedene Fischarten (z.B. Aal, Hering, Thunfisch)	
Cholesterin	Vorstufe von Gallensäuren und Hormonen, Bestandteil von Zellmembranen	Eier (besonders Eigelb), Butter, Margarine, Leber, Niere und Hirn von Kalb, Rind und Schwein, Fischkörperöle, Dorschlebertran,	
Ballaststoffe	Verdauung, Schutz vor Darmkrebs	Vollkornprodukte, Kleie, Leinsamen, Obst und Gemüse	
Wasser	Aufrechterhaltung aller Stoffwechselfunktionen	Getränke, Obst, Gemüse, Quark, Weichkäse, Fleisch	
Vitamine	Wichtig für:	Gute Quellen sind:	
Vitamin A (Retinol)	Baustein des Sehfärbstoffes, Aufbau und Funktionserhaltung von Haut und Schleimhäuten, Schutz vor Oxidation	Leber, Thunfisch, Aal, Margarine, Sojaöl, Als Vorstufe (Beta-Carotin) in: Spinat, Grünkohl, Feldsalat, Paprika, Wirsing, Aprikosen, Sauerkirschen, Möhren	
Vitamin B12 (Cobalamin)	Bestandteil vieler Enzyme, Blutbildung, Schutz vor Herz-Kreislauf Erkrankungen	nur in tierischen Produkten (Innereien, Fisch, Eier, Milchprodukte) und in fermentiertem Gemüse	
Vitamin C (Ascorbinsäure)	verbessert Eisenaufnahme, Bildung und Funktionserhaltung von Bindegewebe und Knochen, Schutz vor Oxidation, Immunabwehr	Gemüse und Obst wie Brokkoli, Paprika, Blumenkohl, Kohlrabi, Zitrusfrüchte, schwarze Johannisbeeren, Kiwi, höchster Gehalt in Hagebutten und Sanddorn	
Vitamin D (Calciferol)	Knochenbildung	Fisch wie Lachs, Heilbutt, Thunfisch, Hering, Margarine, Eier	
Vitamin E (Tocopherol)	Schutz vor Oxidation, entzündungshemmend	Margarine und pflanzliche Öle wie Sonnenblumenöl, Maiskeimöl, Mandeln, Haselnüsse, Leinsamen, Schwarzwurzel, Wirsing, Möhren	
Folsäure	Zellerneuerung, Zellreifung	Leber, Eier, Vollkornprodukte, Brie, Camembert, Limburger, Joghurt 3,5 %, Apfelsine, Weintrauben, Gemüse wie Rosenkohl, Spargel, Erbsen, Bohnen	

Mineralstoffe	Wichtig für:	Gute Quellen sind:	
Kalzium	Knochen- und Zahnschubstanz, Reizübertragung im Nervensystem, Muskelkontraktion, Blutgerinnung	Milch und Milchprodukte wie Joghurt, Käse, Buttermilch, Grünkohl, Fenchel, Lauch, Mineralwasser mit einem Kalziumgehalt von über 150mg/l	
Magnesium	Mineralisation des Knochens, Enzyme, Reizübertragung, Muskelkontraktion	Vollkornbrot, Spinat, Zuckermais, Grünkohl, Käse, Fische v.a. Zander und Karpfen, Geflügel, Mineralwasser mit einem Magnesiumgehalt von über 50 mg/l	
Eisen	Roter Blutfarbstoff, Immunabwehr, Enzyme	Fleisch, Fisch wie Kabeljau, Schellfisch, Seelachs, geringe Mengen in Gemüse wie Spinat, Möhren, Brokkoli, Schwarzwurzeln, Leber, Fruchtemüsli, getrocknete Pflaumen, Sojamehl	

Probandennr.: «ID»

Parameter	Blutabnahme							Referenzwerte (in mmol/l)
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	
Triglyzeride [mmol/l]	«M_01T G_mmoll »	«M_02T G_mmoll »	«M_03T G_mmoll »	«M_04T G_mmoll »	«M_05T G_mmoll »	«M_06T G_mmoll »	«M_07T G_mmoll »	0,68 - 1,88
Cholesterin [mmol/l]	«M_01tC hol_mmo ll»	«M_02tC hol_mmo ll»	«M_03tC hol_mmo ll»	«M_04tC hol_mmo ll»	«M_05tC hol_mmo ll»	«M_06tC hol_mmo ll»	«M_07tC hol_mmo ll»	< 5,2
HDL [mmol/l]	«M_01H DLchol_ mmoll»	«M_02H DLchol_ mmoll»	«M_03H DLchol_ mmoll»	«M_04H DLchol_ mmoll»	«M_05H DLchol_ mmoll»	«M_06H DLchol_ mmoll»	«M_07H DLchol_ mmoll»	> 1,45
LDL [mmol/l]	«M_01L DLchol_ mmoll»	«M_02L DLchol_ mmoll»	«M_03L DLchol_ mmoll»	«M_04L DLchol_ mmoll»	«M_05L DLchol_ mmoll»	«M_06L DLchol_ mmoll»	«M_07L DLchol_ mmoll»	< 3,9

11.6 Ergänzende Daten

Tab. 11.1: Renale Exkretion der phenolischen Marker Tyrosol, Hydroxytyrosol und 3-O-Methylhydroxytyrosol zu Baseline und zu Beginn und Ende des Verzehrs von raffiniertem, gemischtem und nativem Olivenöl

Parameter	Baseline	Raffiniert		Gemischt		Nativ		P
		pre	post	pre	post	pre	post	
T (µg/24-h Urin)	58,7 (51,4; 67,0)	60,6 (53,6; 68,5)	65,6 (57,3; 75,2)	68,9 (60,6; 78,3)	159,9 (143,2; 178,5)	58,7 (52,1; 66,1)	306,3 (273,3; 343,4)	jeweils < 0,001
OHT (µg//24-h- Urin)	74,6 (65,9; 84,4)	96,9 (84,2; 111,5)	116,5 (101,1; 134,3)	109,7 (95,9; 125,5)	493,3 (442,1; 550,4)	96,9 (83,8; 111,9)	816,4 (704,9; 945,6)	jeweils < 0,001
MOHT (µg/24-h- Urin)	14,8 (13,0; 16,8)	18,5 (16,5; 20,8)	18,8 (16,7; 21,2)	20,0 (17,8; 22,4)	50,7 (45,8; 56,2)	17,6 (15,9; 19,5)	90,8 (81,2; 101,7)	jeweils < 0,001

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikante Gruppenunterschiede zwischen Beginn und Ende der jeweiligen Olivenölverzehrperiode mittels Student's t-Test für gepaarte Stichproben; T - Tyrosol; OHT - Hydroxytyrosol; MOHT - 3-O-Methylhydroxytyrosol

Tab. 11.2: Gewicht, Body Mass Index, Gelegenheitsblutdruck, Blutlipide, Parameter der Lipidperoxidation und endogene Antioxidantien im Studienverlauf

Blutab- nahme	<i>Gewicht, BMI und Gelegenheitsblutdruck</i>				
	Gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)	SBD (mmHg)	DBD (mmHg)	
1	76,4 (75,1; 77,6)	23,7 (23,3; 24,1)	123 (122; 125)	78 (78; 79)	
2	76,6 (75,4; 77,9)	23,7 (23,4; 24,1)	122 (120; 123)	78 (78; 79)	
3	76,8 (75,5; 78,0)	23,8 (23,5; 24,1)	121 (119; 123)	76 (76; 78)	
4	76,8 (75,6; 78,1)	23,8 (23,5; 24,1)	120 (119; 122)	76 (75; 77)	
5	76,9 (75,6; 78,1)	23,8 (23,5; 24,2)	121 (119; 122)	76 (76; 77)	
6	76,9 (75,6; 78,1)	23,8 (23,5; 24,2)	120 (118; 122)	76 (76; 77)	
7	76,8 (75,5; 78,1)	23,8 (23,4; 24,2)	119 (117; 121)	76 (75; 76)	
pTrend	0,091	0,090	< 0,001	< 0,004	
Blutab- nahme	<i>Blutlipide</i>				
	tChol (mmol/l)	HDL-C (mmol/l)	LDL-C (mmol/l)	TG (mmol/l)	
1	4,80 (4,69; 4,91)	1,34 (1,31; 1,38)	3,09 (2,99; 3,20)	0,99 (0,96; 1,03)	
2	4,86 (4,75; 4,97)	1,38 (1,35; 1,41)	3,06 (2,96; 3,17)	1,06 (1,01; 1,11)	
3	4,74 (4,63; 4,85)	1,39 (1,36; 1,42)	2,99 (2,89; 3,10)	0,96 (0,92; 1,00)	
4	4,77 (4,66; 4,88)	1,36 (1,33; 1,39)	3,02 (2,92; 3,13)	1,02 (0,98; 1,07)	
5	4,73 (4,62; 4,83)	1,41 (1,38; 1,44)	2,95 (2,85; 3,05)	0,98 (0,94; 1,02)	
6	4,86 (4,75; 4,97)	1,40 (1,37; 1,43)	3,06 (2,96; 3,17)	1,03 (0,98; 1,07)	
7	4,74 (4,64; 4,86)	1,42 (1,39; 1,46)	2,95 (2,84; 3,05)	0,97 (0,93; 1,02)	
pTrend	0,559	0,011	0,252	0,659	
Blutab- nahme	<i>Lipidperoxidation</i>				
	OLAB (U/l)	oxLDL (U/l)	CD (µmol/l)	F ₂ -Isop (ng/l)	OHFA (µmol/l)
1	501,3 (431,9; 581,9)	38,9 (36,9; 41,0)	11,7 (11,3; 12,1)	29,6 (28,8; 30,4)	1,43 (1,39; 1,48)
2	504,7 (437,2; 582,7)	38,9 (37,1; 40,7)	11,8 (11,3; 12,2)	28,5 (27,9; 29,2)	1,36 (1,31; 1,41)
3	484,1 (418,0; 560,7)	34,9 (33,4; 36,4)	10,8 (10,4; 11,1)	27,4 (26,7; 28,2)	1,23 (1,20; 1,26)
4	464,7 (399,1; 541,1)	39,7 (38,0; 41,6)	11,8 (11,4; 12,2)	26,9 (26,2; 27,5)	1,26 (1,22; 1,30)
5	493,8 (425,6; 572,8)	36,7 (34,9; 38,6)	11,0 (10,7; 11,3)	27,1 (26,4; 27,8)	1,23 (1,20; 1,27)
6	487,8 (418,8; 568,2)	39,7 (37,9; 41,6)	11,7 (11,3; 12,1)	27,2 (26,5; 27,9)	1,27 (1,23; 1,31)
7	505,1 (435,7; 585,5)	37,7 (35,8; 39,6)	11,6 (11,2; 12,0)	27,0 (26,3; 27,6)	1,24 (1,19; 1,29)
pTrend	0,800	0,482	0,639	0,015	0,090

Tab. 11.2: - Fortsetzung -

Blutab- nahme	<i>Endogene Antioxidantien (1)</i>			
	GSH-Px (U/l)	GSSG-Rd (U/l)	PON (µmol/l)	SOD (µmol/l)
1	660,5 (645,4; 675,9)	60,2 (58,5; 62,0)	137,4 (126,7; 194,0)	138,3 (135,9; 140,7)
2	678,7 (663,6; 694,2)	59,9 (57,8; 62,1)	140,8 (129,8; 152,7)	138,3 (135,5; 141,1)
3	653,7 (647,0; 670,7)	60,1 (58,2; 62,0)	137,6 (127,0; 149,0)	136,4 (133,7; 139,2)
4	663,3 (652,7; 674,2)	61,8 (59,9; 63,7)	137,0 (126,4; 148,6)	134,9 (132,1; 137,8)
5	674,7 (661,2; 688,6)	60,2 (58,3; 62,1)	139,2 (128,5; 150,9)	135,3 (132,8; 137,9)
6	681,1 (666,8; 695,7)	61,9 (59,9; 64,0)	140,2 (129,3; 152,1)	135,5 (132,9; 138,2)
7	675,2 (661,9; 688,6)	61,7 (59,7; 63,8)	138,1 (127,4; 149,7)	135,6 (133,1; 138,2)
pTrend	0,309	0,173	0,818	0,039

Blutab- nahme	<i>Endogene Antioxidantien (2)</i>		
	GSH (µmol/l)	GSSG (µmol/l)	Verhältnis GSH/GSSG
1	4,63 (4,56; 4,71)	1,35 (1,34; 1,36)	3,73 (3,66; 3,80)
2	5,00 (4,93; 5,08)	1,23 (1,22; 1,24)	4,44 (4,36; 4,52)
3	5,25 (5,18; 5,33)	1,17 (1,16; 1,18)	4,91 (4,82; 4,99)
4	5,52 (5,45; 5,59)	1,07 (1,06; 1,08)	5,69 (5,59; 5,79)
5	5,71 (5,64; 5,79)	0,79 (0,77; 0,83)	8,24 (7,91; 8,59)
6	5,96 (5,90; 6,02)	0,79 (0,76; 0,83)	8,63 (8,23; 9,05)
7	6,18 (6,12; 6,23)	0,68 (0,66; 0,70)	10,61 (10,26; 11,00)
pTrend	< 0,001	< 0,001	< 0,001

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikanten Trend im Studienverlauf mittels gemischtem linearen Modell mit Baselinewert, Alter und Fettdifferenz als Kovariate, Olivenverzehrreihenfolge und Zeit als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; BMI - Body Mass Index; SBD - systolischer Blutdruck; DBD - diastolischer Blutdruck, tChol - Gesamtcholesterin, HDL-C - HDL-Cholesterin, LDL-C - LDL-Cholesterin, TG -Triglyzeride, OLAB - oxidiertes LDL-Antikörper, oxLDL - oxidiertes LDL, CD - konjugierte Diene, OHFA - Hydroxyfettsäuren, GSH-Px - Glutathion Peroxidase, GSSG-Rd - Glutathion Reduktase, PON - Paraoxonase, SOD - Superoxid-Dismutase, GSH - reduziertes Glutathion, GSSG - oxidiertes Glutathion, Verhältnis GSH/GSSG - Verhältnis von reduziertem zu oxidiertem Glutathion

Tab. 11.3: Energie- und Nährstoffzufuhr im Studienverlauf

Parameter	Erhebungszeitpunkte				P _{Trend}
	1	2	3	4	
Energie (MJ)	10,4 (10,1; 10,8)	10,5 (10,2; 10,9)	10,6 (10,2; 11,1)	10,4 (10,0; 10,7)	0,623
Kohlenhydrate (Energie-%)	48,3 (47,4; 49,3)	45,8 (45,0; 46,6)	45,3 (44,2; 46,4)	45,0 (44,2; 45,8)	0,125
Proteine (Energie-%)	14,9 (14,5; 15,2)	14,4 (14,1; 14,8)	14,3 (13,8; 14,8)	14,6 (14,2; 15,0)	0,538
Fett (Energie-%)	34,0 (33,2; 34,9)	37,7 (37,1; 38,4)	37,2 (36,1; 38,4)	37,9 (37,2; 38,6)	0,733
SFA (Fett-%)	45,9 (45,1; 46,8)	38,8 (38,1; 39,6)	37,0 (36,3; 37,8)	37,3 (36,5; 38,2)	0,006
MUFA (Fett-%)	37,4 (36,9; 37,9)	46,7 (46,2; 47,2)	47,7 (47,2; 48,3)	47,5 (46,9; 48,2)	0,027
PUFA (Fett-%)	15,2 (14,6; 15,9)	13,6 (13,2; 14,0)	14,4 (13,9; 14,8)	14,0 (13,5; 14,4)	0,264
Ölsäure (Fett-%)	30,7 (29,6; 31,9)	39,3 (38,8; 39,8)	40,3 (39,8; 40,9)	40,1 (39,5; 40,7)	0,493
Cholesterin (mg)	322 (303; 342)	292 (272; 313)	295 (278; 314)	295 (277; 313)	0,620
Vitamin C (mg)	91,6 (84,9; 98,8)	101,1 (92,7; 110,4)	83,9 (77,8; 90,6)	96,1 (88,3; 104,6)	0,368
Vitamin E (mg)	9,4 (8,9; 9,9)	10,9 (10,4; 11,4)	10,9 (10,5; 11,4)	11,7 (11,2; 12,3)	0,007
Vitamin A (mg)	1,29 (1,22; 1,36)	1,25 (1,16; 1,35)	1,26 (1,17; 1,35)	1,14 (1,07; 1,22)	0,205
Folsäure (µg)	238 (227; 250)	241 (230; 254)	235 (224; 246)	250 (236; 266)	0,190
Vitamin B ₆ (mg)	1,81 (1,73; 1,89)	1,77 (1,70; 1,85)	1,77 (1,70; 1,84)	1,85 (1,78; 1,93)	0,021
Vitamin B ₁₂ (mg)	3,75 (3,41; 4,12)	3,49 (3,10; 3,94)	3,73 (3,45; 4,15)	3,87 (3,51; 4,25)	0,104

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikanten Trend im Studienverlauf mittels gemischten linearen Modell mit Baselinewert und Alter als Kovariate, Olivenverzehrreihenfolge und Zeit als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; SFA - gesättigte Fettsäuren; MUFA - einfach ungesättigte Fettsäuren; PUFA - mehrfach ungesättigte Fettsäuren

Tab. 11.4: Energie- und Nährstoffaufnahme in den Verzehrsphasen mit und ohne Olivenöl

Parameter	kein Olivenöl	Olivenöl	p
Energie (MJ)	10,4 (10,1; 10,8)	10,8 (10,4; 11,2)	0,472
Kohlenhydrate (Energie-%)	48,3 (47,4; 49,3)	45,7 (44,7; 46,8)	0,032
Proteine (Energie-%)	14,9 (14,5; 15,2)	13,7 (13,3; 14,2)	0,026
Fett (Energie-%)	34,0 (33,2; 34,9)	37,4 (36,2; 38,5)	0,004
SFA (Fett-%)	45,9 (45,1; 46,8)	37,8 (37,0; 38,6)	< 0,001
MUFA (Fett-%)	37,4 (36,9; 37,9)	47,2 (46,6; 47,9)	< 0,001
PUFA (Fett-%)	15,2 (14,6; 15,9)	14,0 (13,6; 14,4)	0,074
Ölsäure (Fett-%)	30,7 (29,6; 31,9)	39,7 (39,1; 40,4)	< 0,001
Cholesterin (mg)	322 (303; 342)	279 (261; 298)	0,032
Vitamin C (mg)	91,6 (84,9; 98,8)	95,4 (87,8; 104)	0,646
Vitamin E (mg)	9,4 (8,9; 9,9)	11,6 (11,1; 12,1)	< 0,001
Vitamin A (mg)	1,29 (1,22; 1,36)	1,21 (1,13; 1,29)	0,347
Folsäure (µg)	238 (227; 250)	241 (230; 252)	0,872
Vitamin B ₆ (mg)	1,81 (1,73; 1,89)	1,75 (1,68; 1,82)	0,474
Vitamin B ₁₂ (mg)	3,75 (3,41; 4,12)	4,42 (3,05; 3,84)	0,353

Angaben als geometrischer Mittelwert und SEM (untere; obere Grenze); Test auf signifikante Gruppenunterschiede mittels gemischtem linearen Modell Baselinewert und Alter als Kovariate, Olivenverzehrreihenfolge und Treatment als feste Faktoren sowie Probandennummer als zufälliger Faktor; SFA - gesättigte Fettsäuren; MUFA - einfach ungesättigte Fettsäuren; PUFA - mehrfach ungesättigte Fettsäuren

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich die Gelegenheit nutzen allen Personen, die auf unterschiedliche Art und Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, meinen Dank auszusprechen.

Allen voran danke ich Prof. Dr. Hans-Joachim F. Zunft, der mir das Schreiben dieser Arbeit am Deutschen Institut für Ernährungsforschung ermöglicht hat. Ferner bedanke ich mich für die in zahlreichen Diskussionen vermittelten kritischen und konstruktiven Anregungen und für die allzeit gewährte Unterstützung.

Des Weiteren gilt mein Dank Dr. Corinna Koebnick, die mir mit ihrer stetigen Diskussionsbereitschaft sowie ihren umfassenden Hilfestellungen nicht nur in statistischen Fragen immer zur Seite stand.

Ebenso möchte ich allen Mitarbeitern der ehem. Abteilung Interventionsstudien bzw. ehem. NG Ballaststoffe und Metabolisches Syndrom meinen Dank aussprechen für die angenehme und unkomplizierte Arbeitsatmosphäre, vielseitige Unterstützung und für die zahlreichen geselligen Stunden sowohl dienstlicher als auch privater Natur. Speziell bei Sindy Gründel, Mandy Kuphal, Dörte Wissmann, Stefanie Schultz und Renate Schröder bedanke ich mich für die tatkräftige Unterstützung bei der Realisierung der Interventionsstudie. Diese gute und zuverlässige Zusammenarbeit hat im Wesentlichen zum Gelingen der Studie beigetragen.

Mein Dank gilt weiterhin der Projektkoordinatorin Dr. Maria-Isabel Covas sowie allen Projektpartnern, des durch die Kommission der Europäischen Gemeinschaft geförderten Forschungsprojektes „Euroolive“, für die interessante und lehrreiche Zusammenarbeit.

Schließlich danke ich allen bereitwilligen Korrekturlesern und ihren konstruktiven Hinweisen. Vor allem jedoch Dagmar Vulprecht, die sich breit schlagen ließ, das gesamte Manuskript rechtsschreibtechnisch genau unter die Lupe zu nehmen.

An dieser Stelle sollen auch die Probanden nicht vergessen sein, ohne deren aufopferungsvollem Mitwirken diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Mein innigster Dank gebührt jedoch meiner Familie und meinen Freunden. Ihre unerschöpfliche Geduld und Verständnis, stetige seelische und moralische Unterstützung und ihr Glauben an mich, hat mich immer wieder neu motiviert und meine eigene Zuversicht gestärkt.

SELBSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema:

„Untersuchung kardioprotektiver Wirkungen des Olivenöles und seiner phenolischen
Komponenten in einer Gruppe gesunder deutscher Männern,,

selbständig angefertigt, in gleicher oder ähnlicher Fassung noch nicht in einem anderen Studiengang als Prüfungsleistung vorgelegt und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel und Quellen benutzt habe. Die Arbeit stellt weder als Ganzes, noch in Teilen eine Kopie fremder Arbeiten dar.

Potsdam, den.....

.....

(Unterschrift des Verfassers)